家庭内仕様の白色発光ダイオード（LED）と実験用ラットでの網膜損傷

シャン・ユーマン（台湾大学）、ワン・ゲンシュー（台湾大学）、
デビッド・スライニー（元アメリカ陸軍医療部）、ヤン・チャンハオ（台湾大学）、
リー・リーリン（台湾工業技術研究所）

『環境健康展望』122 巻 3 号、2014 年 3 月　翻訳：杉野実＋上田昌文
原文：White Light-Emitting Diodes (LEDs) at Domestic Lighting Levels and Retinal Injury in a Rat Model
Environmental Health Perspectives ,volume 122, No. 3, March 2014

背景:発光ダイオード(LED)は、在来の照明用光源よりも強い青色光を、網膜に到達させる。高強度光(2000 から 10000 ルクス)への慢性曝露が網膜の損傷をもたらすことは以前から知られているが、比較的低強度の光(750 ルクス)への慢性曝露が、齧歯類の動物実験により評価されたことはなかった。
目的:LED により引き起こされる SD ラット（注：代表的な実験用ラット）の網膜神経細胞損傷を、機能学的・組織学的・生化学的方法を用いて調べた。
方法:青色 LED(460 ナノメートル)とフルスペクトルの白色 LED、およびそれに相当するコンパクト蛍光灯を、照射のために使用した。生理学的検査は電子網膜撮影、ヘマトキシリン・エオジン(H&E)染色、免疫組織化学(IHC)および走査型電子顕微鏡(TEM)をふくむ。酸化ストレス水準を決定するために、網膜内のフリーラジカルの生成を計測した。
結果:H&E 染色と TEM は光受容体の細胞死および壊死を示し、青色光が網膜の光化学的損傷を誘発することが示唆された。LED 曝露集団においては、網膜内でのフリーラジカル生成も増加した。LED 集団では重度の網膜損傷がみられ、一方コンパクト蛍光灯（CFL）集団では中度あるいは軽度の損傷がみられた。
結論:LED 光への慢性的曝露は、青色光のより少ない他の光源にくらべて、網膜に悪影響を及ぼしやすいのではないかとの疑問が持たれる。したがって、青色光の豊富な「白色」LED を一般照明に使用する際には、予防的な措置が講じられるべきであることが示唆される。

はじめに

人工照明は現代社会の基本的な要素である。しかし光汚染による潜在的な健康への危険は、照明技術が洗練されるにつれて増大している(Chepesiuk 2009)。多種類の人工照明のなかでも、LED は在来の照明用光源より高レベルの青色光を照射する。LED によるものほど強力な青色光への曝露は、人類がはじめて経験するものである(Behar-Cohen et al. 2011)。環境衛生的な観点からみると、LED のように重要な省エネ技術がさらに発展する前に、それを用いることによる慢性的曝露が引き起こす網膜損傷およびその潜在的危険を評価する

ことが、要求されているといえる。

LED（ないし固体）光源は、可視光線の全波長域にある光を照射するように設計されており、そのため商業生産された、もっともエネルギー効率の高い光源といわれている。しかし現在の多くの「白色」LED は、在来照明具よりかなり多くの青色光を放射しており、そのため体内時計の停止その他の、健康への影響がみられる(Holzman 2010)。もっとも一般的な LED 照明製品である燐変換(PC)LED は、燐を塗布した層を通じて青色光を放射して、最終的に白色光を照射するものである(Spivey 2011)。LED から照射された白色光は人間の目には正常にみえるが、そのスペクトル中には 460 から 500 ナノメートルの青色光の鋭いピークがみられるのであって、そのような光が網膜に害をなすことも知られている(Behar-Cohen et al. 2011)。短波長光への曝露が加齢黄斑変性(AMD)発症の素因となることも、疫学研究は示唆している(Wu et al. 2006)。また動物実験があきらかにしたところによれば、青色光への過度の曝露は、光受容体および網膜色素上覆細胞(RPE)を標的とする光化学的な網膜損傷の、決定的な要因となる(Hafezi et al. 1997)。

累積的効果に起因する光化学的な網膜損傷は、継続的な光への曝露を通じた、網膜組織からのフリーラジカルの生成によってひきおこされる(Dong et al. 2000)。曝露が防御能力を超過したとき、有害なフリーラジカルと反応性の強い活性酸素種が生成されうる(Beatty et al. 2000)。しかし波長依存的な効果と、白色 LED 光に惹起される網膜障害へのその影響については、まだ解明されていない。

Noell et al. (1966)が、蛍光灯光への環境的曝露による網膜損傷を最初に記載して以来、網膜の光損傷は集中的に研究されてきたし、高強度の青色光が急性網膜損傷をおこすとした研究も多数ある(Ham et al. 1976)。だが慢性曝露環境下での、比較的低強度の青色光への曝露に焦点をあてた研究はほとんどない(Peng et al. 2012)。白色光のスペクトル構成は LED 製品によりことなるし、またその光性能は時間によっても変化する。PC LED は、当初こそ頑強であるものの、燐の劣化により光束の質が低下すると、次第に短波長（青色）の光を多く出すようになる。光の質は光束維持水準の 70 パーセントをわったときに悪化する(U.S. Department of Energy 2009)。このような特徴が示唆するのは、白色 LED は他の自家用光源よりも、高レベルの青色光曝露をおこしうるということである。青色光への累積的な曝露は、網膜の老化を加速させ、AMD の原因にもなりうると議論されている(Behar-Cohen et al. 2011)ので、青色光を多くふくむ自家用光源の、網膜への潜在的効果を決定するための、さらなる研究が要請されている。

LED への慢性的な曝露は網膜の光化学的損傷をひきおこしうると、われわれは仮定した。本研究は実験動物のラットについて実施され、酸化ストレスにより誘発される網膜神経細胞の損傷が検査された。網膜光損傷の生物学的指標を特定するために、機能学的・組織学的および生化学的な計測が用いられた。

試料および方法

動物および飼育条件　全部で 120 匹の成体（生後 8 週）スプラーグ・ダウリーラットを、台北のバイオラスコ社より購入した。実験以前の環境下での光曝露の影響を除去するために、動物は暗環境下で 14 日間飼育された。曝露しない（暗環境にとどまる）ラットが対照群とされた（各時点において標本数 3）。それ以外の 108 匹は集団にわけられ、4 光源のうちのひとつから、計画どおりの光照射を受けた（各時点において標本数 8）（図 1）。すべての個体は水と食料を随意に摂取した。本研究でのラットの使用は、*眼科・視覚研究における動物の使用に関する声明*(ARVO 2013)にしたがった。動物は人道的に、苦痛の軽減を考慮してとりあつかわれた。さらなる詳細については、付属資料の 2 ページおよび図 S1 を参照されたい。

暗（14 日間）　光曝露（12 時間暗・12 時間明の周期的照明を 28 日間）　回復（14 日間暗）

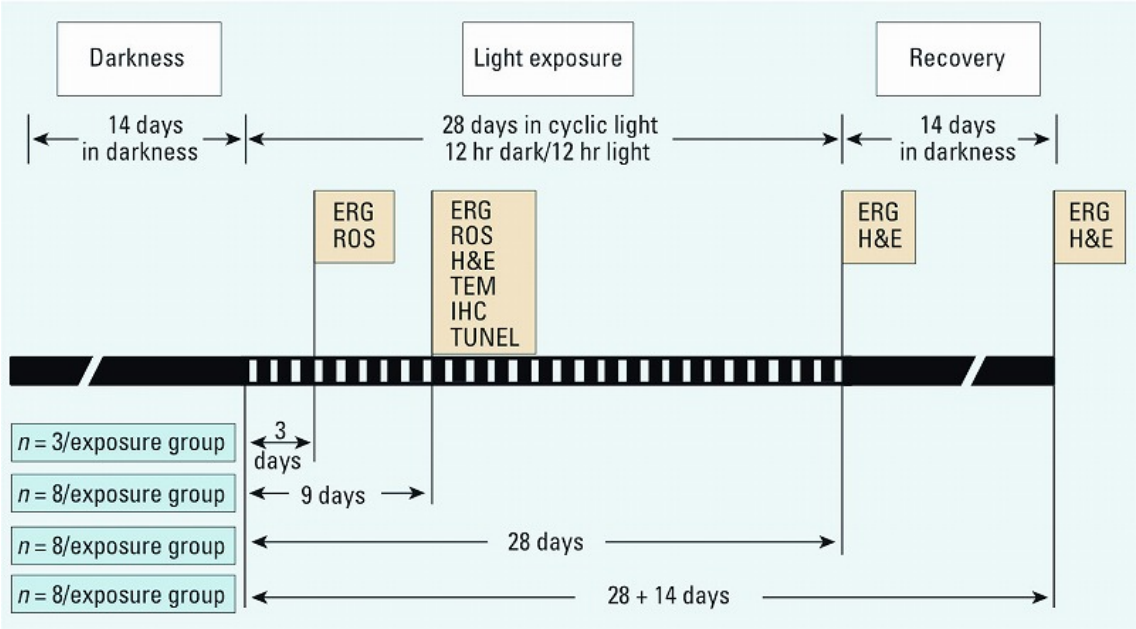

図 1　時間わりおよび実験計画。略語：CFL,コンパクト蛍光灯；ERG,電子網膜撮影；H&E,ヘマトキシン・エオジン染色；IHC,免疫組織化学；ROS,活性酸素；TEM,走査型電子顕微鏡；TUNEL,最終デオキシヌクレオチド転移酵素三燐化デオキシウリジン刻印末端ラベリング。暗環境下での 14 日間ののち、ラットは 4 集団にわけられ、ことなる光源（青色 LED、白色 LED、白色 CFL、黄色 CFL）に曝露させられた。特定の分析技術は、曝露期間の終盤に実施された。

光源　単一波長青色 LED（460±10 ナノメートル）および PC 白色 LED は、曝露実験のために特注されたもの（台北・ブルードッグテクノロジー社）である。PCLED の当該色温度(CCT)は 6500 ケルビンである。白色 CFL（川世・中華工業社の ESE27D-EX）の CCT も 6500 ケルビンだが、黄色 CFL（同社の ESE27L-EX）の CCT は 3000 ケルビンである。それ

ぞれの光源は、積分球において 40 の測定をなすように計画された。すべての光源のスペクトル強度分布(SPD)および総強度は、試験認証機関である新竹の工業技術研究所で検査されたが、その結果は図 2 に表示されている。

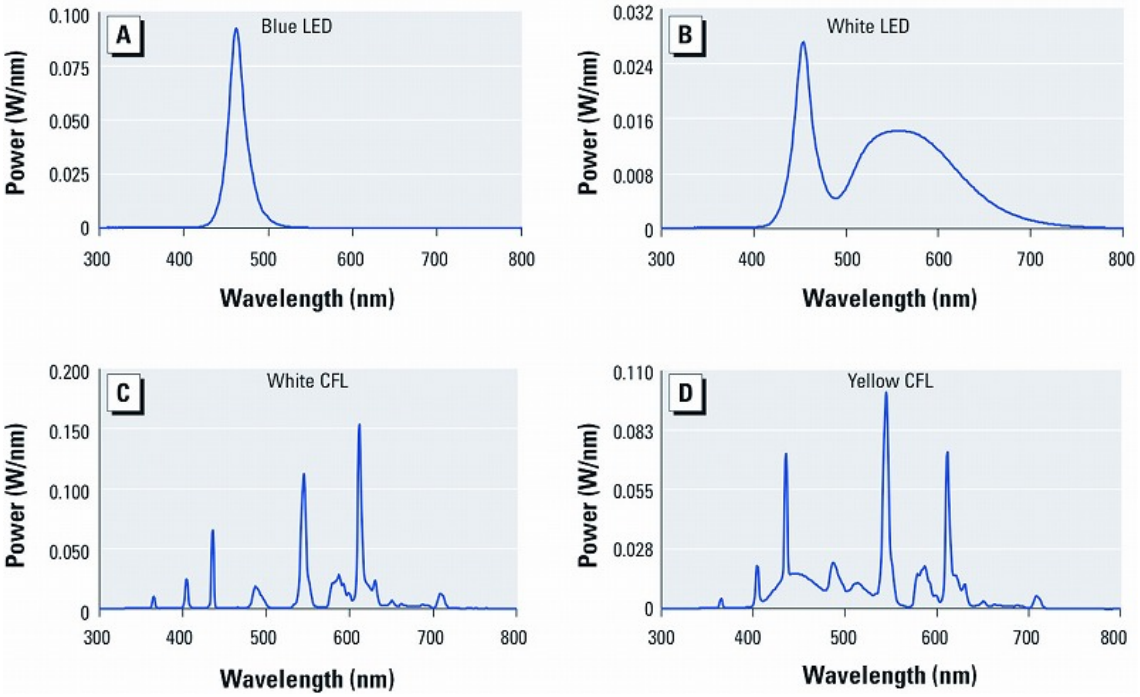

図 2（A)青色 LED、(B)白色 LED、(C)白色 CFL および(D)黄色 CFL の光源 SPD 曲線。単一波長青色 LED 光(A)のピークは 460 ナノメートル(出力 0.1 ワット毎ナノメートル)にあった。白色 LED 光(B)の CCT は 6500 ケルビンであった。波長 460 ナノメートルで出力 0.028 ワット毎ナノメートルの最初のピークは青色成分を示しており、第二の鐘状のピークはより強力な黄色成分を示している。CCT6500 ケルビンの CFL 光(C)は、スペクトル中に複数のするどいピークを示すが、青のピークは黄色ないし赤のそれに比較して短く、また全幅半最大値(FWHM)は(A)や(B)より小さい。黄色 CFL 光の SPD 曲線(D)は(C)と類似しているが、CCT は 3000 ケルビンであり、最大ピークも黄色にある。試験されたすべての光源は青のピークをふくむが、曲線の形状がちがえば全体の強度もことなる。各光源における目盛りのちがいにも注意。

光曝露　光曝露のために、動物は 4 集団にわけられた。ラットの各個体は透明のかご（45×25×20 センチメートル）に入れられ、それぞれのかごはたな（75×45×35 センチメートル）の中央におかれた。光源はそれぞれのたなの真上におかれ、またたがいに 20 センチメートルはなされることにより、共通の照度水準 750 ルクスが達成されるようにされた。14 日の暗期間ののち、光曝露は 15 日目の 1800 時間に始まり、明暗それぞれ 12 時間の周期で、3 日、9 日ないしは 28 日続くこととされた。動物は光曝露の終盤に犠牲に供されたが、32 匹（各曝露集団から 8 匹ずつ）だけは例外であって、それらは 28 日間光に曝露したのち、回復のため 14 日間暗環境におかれ（28+14 集団)、壊死した神経受容体細胞のくずが除去さ

れることを期待された。

電子網膜撮影(ERG)　ERG の実施方法は Schatz et al. (2012)によるが、いくらかの改良もされている。簡単にいうと網膜電気反応を、光曝露が始まる直前と直後に（各個体には測定前に 18 時間の暗順応をさせて）、ERG（ドイツ・ヘニングスドルフのアクリベット社製 RETIport ERG/VEP およびそのソフトウェア）を用いて記録する。0.5 パーセントアルケイン（ベルギー・プルスのアルコン製薬社製塩酸プロキシメタケイン）を局所麻酔に使用した。4 ワット LED（1 ミリボルト）により、20 ミリ秒閃光からなる光が供給され、明順応 ERG 反応のための輝度は、対数表示で 2.5 カンデラ秒毎平方メートルとされた。ソフトウェアにより計算された 10 刺激の重みつき平均を、最終的な検出値とした。さらなる詳細については、付属資料の 4―5 ページを参照されたい。

組織収集　ERG 撮影の直後に動物は、ペントバルビタールナトリウム（腹膜内に体重 1 キログラムあたり 60 ミリグラム未満）で殺生され、眼球を摘出された。H&E 染色および TUNEL のため、眼球は一晩、パラホルムアルデヒドの 0.1 モーラー燐緩衝塩(PBS)4 パーセント溶液(PH7.4)にひたされて液浸固定され、その後パラフィン中にうつされた。IHC 染色のため眼球はただちに液体窒素で凍結され、ガラス片上に設置された 4 マイクロメートルの凍結切片は、分析時まで－80 度に維持された。ROS 分析のために摘出された眼球もただちに液体窒素で凍結され、500 マイクロリットル生理食塩水中で均質化された。TEM 分析されるべき眼球も処理以前に、グルタルアルデヒドの PBS2.5 パーセント溶液中で 2 時間液浸固定された。

ヘマトキシリン・エオジン(H&E)固定　簡潔にいうと、パラフィンにひたされた組織は 5 マイクロメートル切片に加工されてガラス片上に設置され、パラフィンをぬかれたのちに H&E 染色された。網膜組織学的検査は、9 日・28 日および 24+14 日曝露集団において、いくらかの改良はともないつつも、Collier et al. (2011)により以前に記述された方法にしたがって実施された。すべての組織学的分析において、網膜の中部上面を検査した。外顆粒層(ONL)を計測し、光学顕微鏡を使用して網膜形態学的変異を検査した。

TUNEL 分析　9 日間曝露後の眼球における細胞死を検出するために、フラグ EL 遺伝子片検出キット（ドイツ・ダルムスタッドのカルバイオケム社製）を用いて、改良はしつつも、パラフィン切片に関するその製造者の指示にしたがって実施した。組織は DAPI（4’,6 ジアミジノ 2 フェニルインドール）で除染された。DNA 鎖切断に付箋するためには、FITC（フルオレセインイソシアネート）アビジン D を使用した。RPE をのぞく全網膜の切片は、蛍光顕微鏡（ニューヨーク州メルビルのニコン工業社製）を用いて可視化された。各切片中の TUNEL 陽性細胞の個数は、イメージ・プロ・プラス・ソフトウェア（メリーランド州

ロックビルのメディア・サイバネティクス社製、6.0 バージョン）を使用して数えられた。さらなる詳細については、付属資料の 5－6 ページを参照されたい。

IHC　IHC は 9 日間以上曝露した集団に対して、前述の(Collier et al. 2011; Fang et al. 2013)とおり実施された。簡潔にいうと、網膜標本の凍結切片は摂氏 48 度で一晩、以下の主要抗体のうちひとつとともに培養された。すなわち、DNA を検出するために 8 ヒドロキシ 2 デオキシグアノシン抗体（8-OHdG・50 倍希釈、静岡の日本老化制御研究所製）、脂質を検出するためにアクロレイン抗体（200 倍希釈、サンディエゴのアドバンスト・ターゲッティング・システム社製）そしてニトロチロシン抗体（200 倍希釈、メリーランド州ケンブリッジのアブカム社製）である。二次抗体としてはビオチン標識されたウサギ抗体 IgG を用い、標識を増幅するためには FITC アビジン D を用いた。各切片中の陽性細胞を数えるのに使用したのは、イメージ・プロ・プラス・ソフトである。

走査型電子顕微鏡(TEM)分析　9 日間曝露集団からえられた網膜組織の TEM は、前述した(Hafezi et al. 1997)とおりに、国立台湾大学病院病理学教室の電子顕微鏡施設で実施された。簡潔にいうと、1 ミリメートルの網膜薄片が TEM 用に加工され（詳細については、付属資料の 6―7 ページを参照されたい）、切片が高解像度 TEM 機器（東京の日本電子社製 JEM-1400）を使用して検査された。

活性酸素分析(ROS)　活性酸素は前述(Fang et al. 2013)のとおり、3 日ないし 9 日間の曝露後に測定された。簡潔にいうと、3 日・9 日光曝露集団網膜中の活性酸素が、増強剤ルシジェニン（ビス N メチル硝酸アクリジニウム）を、化学蛍光分析機（石巻の東北電子社製 CLA-FS1）に添加することにより計測された。蓄積された超酸化物アニオンと全酸化性成分は、10 秒ごとに捕捉され、1 分の基礎的な検出ののち 7 分間計算される。さらなる詳細については、付属資料の 7 ページを参照されたい。

統計的分析　特に注記されていない場合、データは平均値プラスマイナス標準偏差で表示される。データの評価には分散分析(ANOVA)を用い、集団間の相違を表示するためにはタッキー事後検定を採用した。P 値 0.05 未満は統計的に有意とした。

結果

電子生理学的反応(ERG)　代表的なラットの ERG 曲線を図 3A に表示した。14 日・23 日あるいは 42 日の暗期間ののち、対照群は高い b 波のピークを示したが、LED あるいは CFL に曝露した動物からえられた網膜の b 波ピークは低く、そのことは細胞機能の損傷を示している。図 3B に示されているとおり、ふたつの LED 集団および白色 CFL 集団はすべて、9 日ないし 28 日の光曝露により、b 波強度の有意な現象を示した（タッキー事後検定をと

もなう ANOVA によると p＜0.01)。黄色 CFL 集団における b 波強度は、9 日曝露では有意に減少しなかったが、28 日曝露では 21 パーセント減少した。4 集団のいずれにおいても、28+14 日曝露においては、28 日曝露と比較して統計的に有意な差異はみられなかった。同様の傾向は H&E 染色の結果でもみられるが、ここではそのデータは示していない。3 日間の曝露では有意義な変化はみられなかったので、そのデータも示さなかった。

B 強度（マイクロボルト）

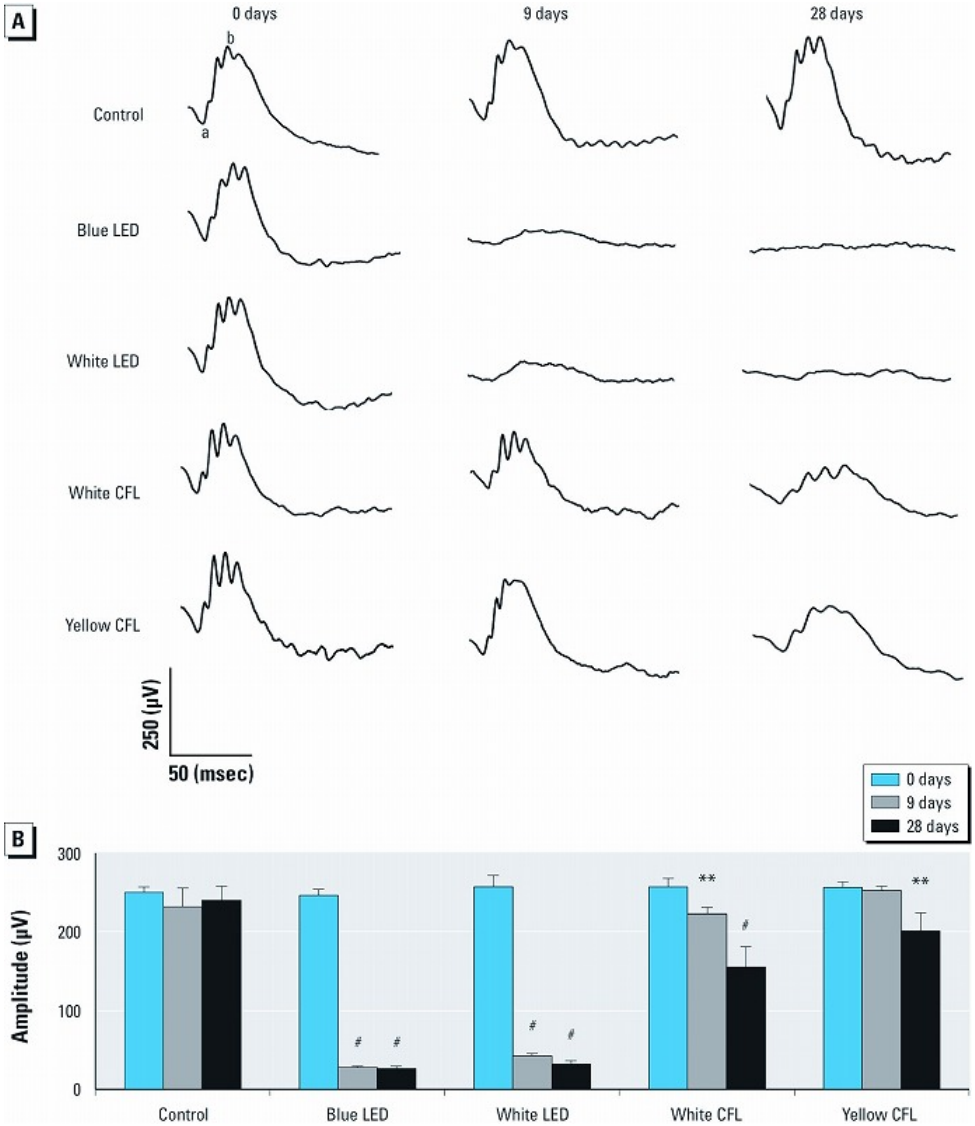

図 3　曝露しなかった(対照群)あるいは青色 LED、白色 LED、白色 CFL および黄色 CFL に 9 日間ないし 28 日間光曝露したラットの、代表的な ERG 反応(A)および b 波強度(B)。(B)の値は平均プラスマイナス標準偏差（各時点において、対照群のみ n＝3、光曝露した群は n＝8。）

ANOVA およびタッキー事後検定により対照群と比較したとき、**は p＜0.01、#は p＜0.001。

網膜組織学　白色 LED 光への曝露は、ラットの網膜において、形態学的な変異をひきおこしうる。対照群（図 4A）と比較すると、750 ルクスの白色 LED に 28 日間曝露した群は、光受容体核の濃縮、内節の膨張および外節の乱雑化を示した（図 4B)。ONL の厚さは、白色および青色 LED に 9 日ないし 28 日間曝露した群において、有意に減少した（図 4C, D）（タッキー事後検定をともなう ANOVA により $p<0.01$; 図 4G）が、白色および黄色 CFL に 9 日間曝露した群では、ONL の厚さは有意に変化しなかった（図 4E, F, G)。

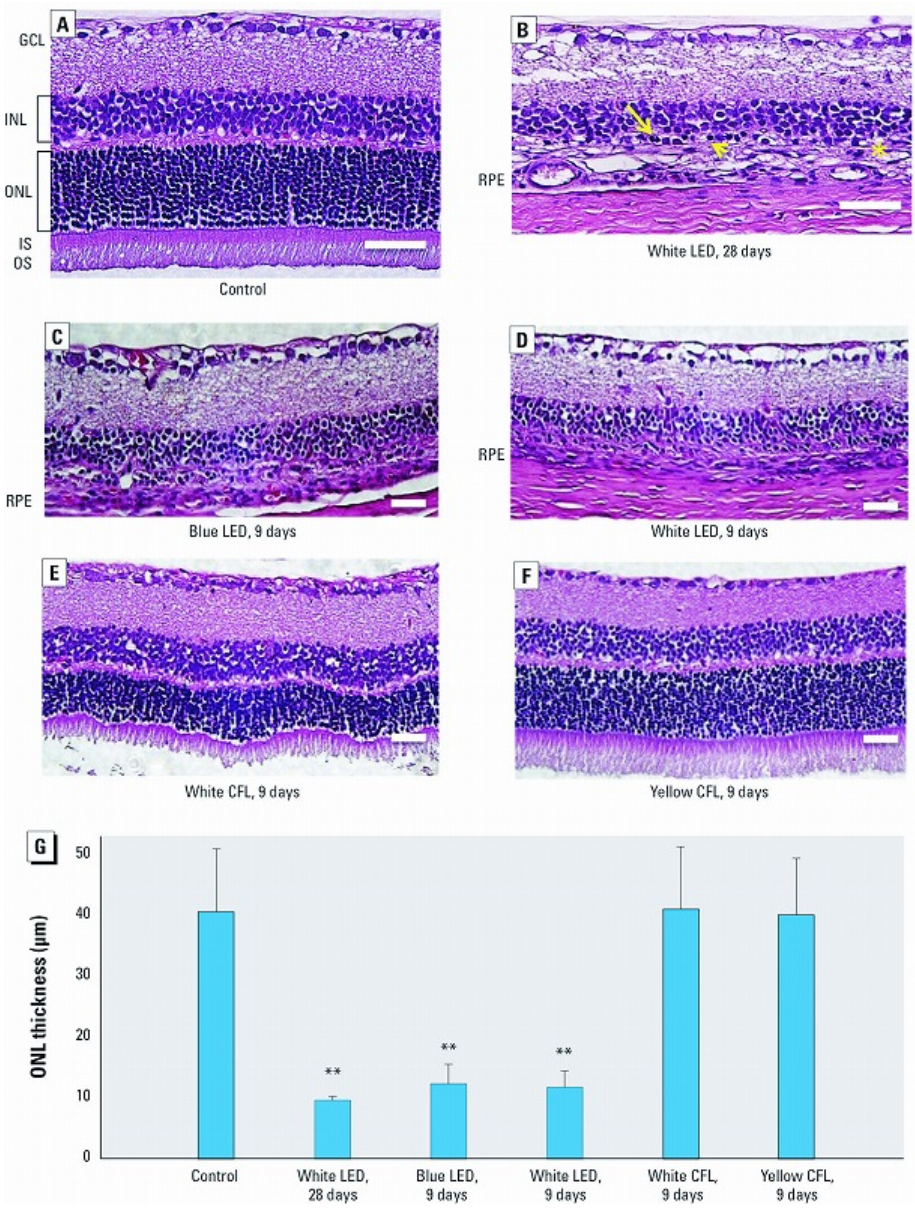

図 4　対照群(A)および、白色 LED 光に 28 日間(B)、ないし青色 LED(C)・白色 LED(D)・白色 CFL(E)・黄色 CFL 光に 9 日間曝露した(F)ラットからえられた、代表的な網膜組織切片の H&E 染色。(G)は網膜内で測定された ONL の厚さ(平均値プラスマイナス標準偏差。対照群で n=3、光曝露各群では各時点で n=8)。略語：GCL, 神経節細胞層；INL, 内顆粒層；IS, 外節；ONL, 外顆粒層；OS, 内節；RPE, 網膜色素上覆細胞（通常は OS 層に隣接するが、分

離されてこの視野内にはみえない)。(A)対照群の網膜層組織は正常。(B)白色 LED に 28 日間曝露すると、網膜損傷により光受容体核が濃縮し(矢印)、内層が膨張し(矢印頭部)、部層が乱雑化して RPE がみえなくなり(星印)、INL が退化した。青色 LED(C)と白色 LED に曝露したラットの網膜(D)には光受容体がなかった。白色 CFL 群(E)において OS と ONL のゆがみがみられたが、黄色 CFL 群(F)ではその動きは小さかった。(A)から(F)までのすべてにおいて、画像幅は 50 マイクロメートル。(G)ONL の厚さは、LED 群において 9 日および 28 日の曝露で有意に減少したが、白色ないし黄色の CFL 群では、9 日の曝露では有意に変化しなかった。

**タッキー事後検定をともなう ANOVA で対照群と比較したとき p＜0.01。

TUNEL 染色により検出された細胞死　光曝露はすべての群において、有意な網膜細胞の細胞死を誘発した（図 5A、B)。しかし 9 日間曝露ののちには、LED 曝露群において、CFL 曝露群よりも多くの死滅細胞がみられた（タッキー事後検定をともなう ANOVA により、LED 群で p＜0.001、CFL 群で p＜0.01）（図 5B)。

A　TUNEL/DAPI/合併

B　相対蛍光強度(倍)

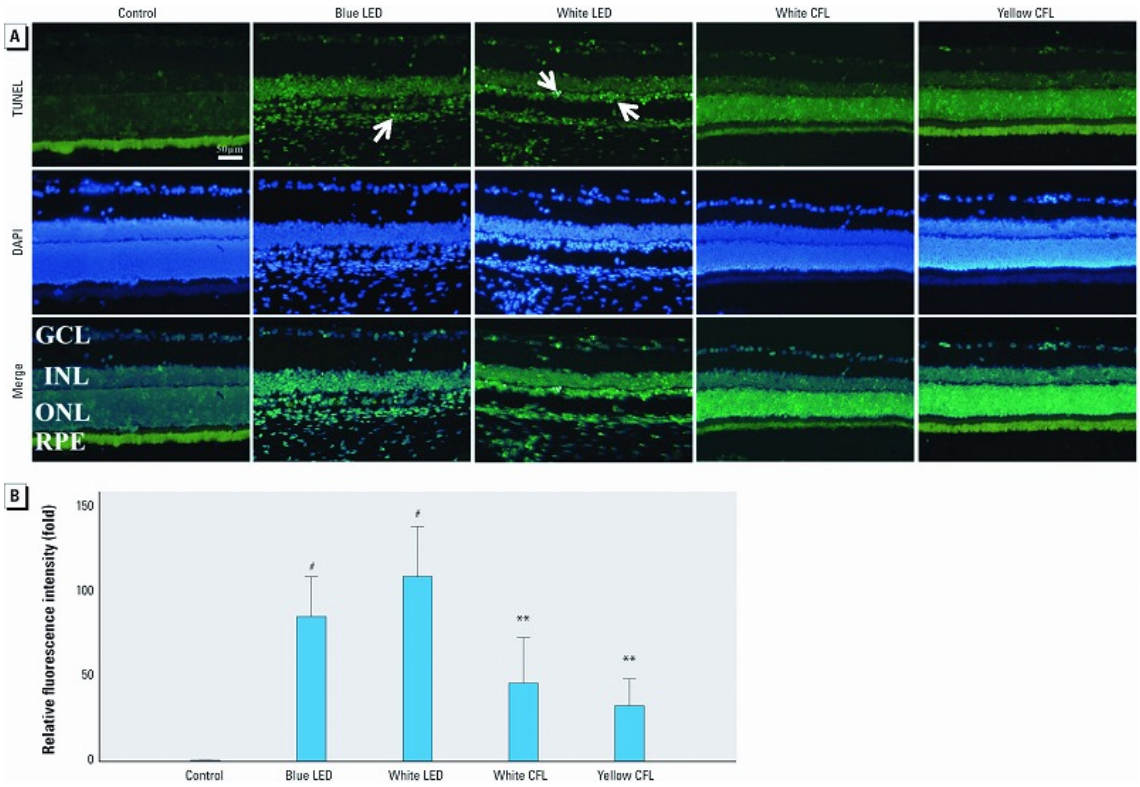

図 5　TUNEL 標識により検知された網膜細胞死(損傷した網膜細胞が陽性となる)。(A)対照群および青色 LED・白色 LED・白色 CFL・黄色 CFL に 9 日間曝露したラットからえられた、網膜細胞死の代表的な画像(幅は 50 ミリメートル)。より多数の網膜中の死滅細胞(矢印)が、CFL 曝露群よりも LED 曝露群においてみられた。略語:GCL, 神経節細胞層;INL, 内顆粒層;ONL, 外顆粒層;RPE, 網膜色素上覆細胞。(B)平均値プラスマイナス標準偏差で表示した、光曝露群における相対蛍光強度(対照群で n=3、光曝露各群で n=8)。LED 曝露群は、CFL 群れよりも大き

な相対蛍光強度を示した。

タッキー事後検定つき ANOVA で対照群と比較したとき、**p＜0.01、*p＜0.001。

TEM分析　対照群および、白色 LED 光に 9 日間曝露群から採集された標本組織における、光受容体の核損傷を、図 6 に示した。曝露後に生じた光受容体の核損傷は、核圧縮（図 6B）・核融解（図 6C）・核濃縮（図 6D-E）および核崩壊（図 6F）をふくむ。内節および外節の崩壊（図 6G-L）も観察された。

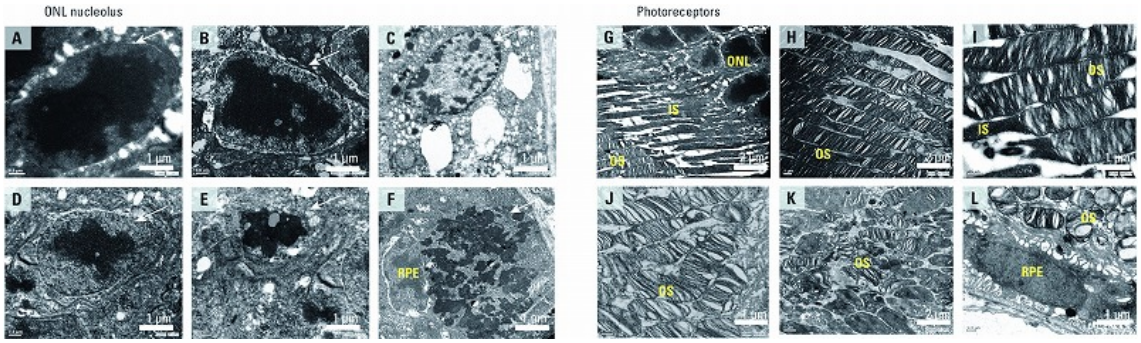

図 6　対照群(A, G)と白色 LED 光 9 日曝露群(B–F, H–L)のラットにおける、ONL 核(A–F)および光受容体の損傷(G–L)を示した、代表的な TEM 写真画像。略語：IS, 内節；ONL, 外顆粒層；OS, 内節；RPE；網膜色素上覆細胞。対照群(A)と比較した際の核変形は、(B)核圧縮・(C)核融解・(D, E)核濃縮・(F)核崩壊のように、矢印で示される。(G–L)対照群ラットからえられた、正常な受容体・IS および OS。(H, J)小規模な崩壊を示す、光受容体の変形。(J, K, L)OS 縮小をともなう IS 消失、および複数小球体の形成。(A–F)と(I, J, L)の幅は 1 マイクロメートル、(G, H, K)の幅は 2 マイクロメートル。各画像はことなる標本より取得。

免疫組織化学　酸化損傷に起因する巨大分子の内展は、免疫組織化学により検知される。9 日間曝露したラットの網膜における細胞状態を検知するために、脂質検出にはアクロレイン（図 7A）、DNA 検出には 8-OHdE（図 7B）そして蛋白質特定にはニトロチロシン（図 7C）という、3 種の抗体を使用した。LED 曝露群は ONL において、アクロレイン・8-OHdE およびニトロチロシンで、より高い蛍光強度を示したが、CFL 曝露群の ONL にあっては、それら 3 種蛋白質の蛍光強度はより低かった。

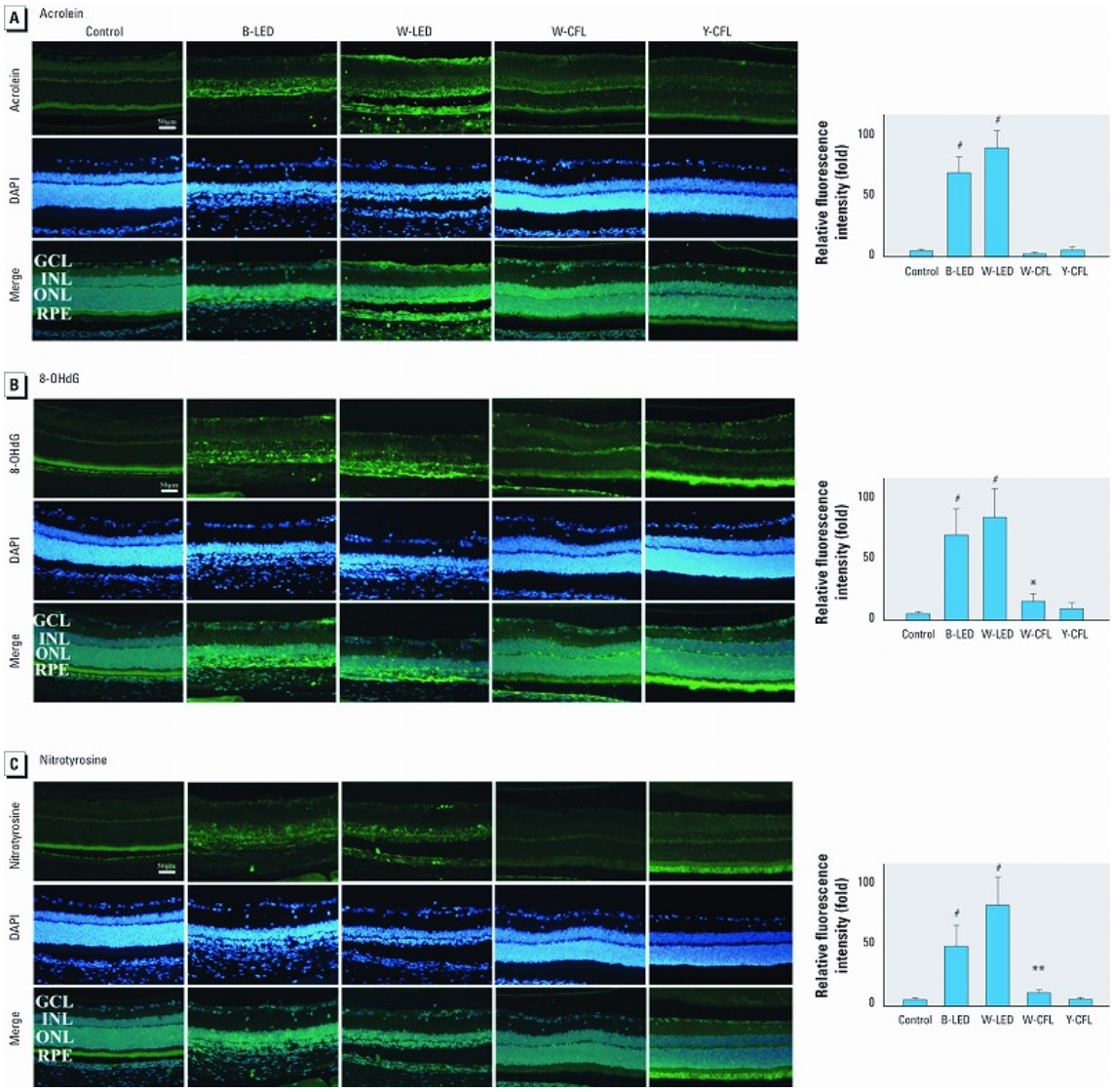

図 7　対照群および青色 LED・白色 LED・白色 CFL・黄色 CFL 光に 9 日間曝露したラットにおける、脂質内展検知アクロレイン(A)・DNA 内展検知 8-OHdG(B)および蛋白質内展認識ニトロチロシン(C)を使用した IHC 染色により表示された、網膜の光損傷。略語：B，青；W，白；Y，黄。左は代表的な顕微鏡画像(幅は 50 マイクロメートル)。右は対照群と比較した、蛋白質反応細胞の蛍光強度の、平均値プラスマイナス標準偏差（対照群で n=3、光曝露各群で n=8）。LED 曝露群は ONL においてより高い蛍光強度を示したが、CFL 曝露群の蛍光強度はそれよりも低かった。

タッキー事後検定つき ANOVA で対照群と比較したとき、**p＜0.01、*p＜0.001。

酸化ストレス　図 8A に示したように、ルシジェニンに刺激された超酸化物イオン、および全酸化性成分が、すべての集団において計測された。青色 LED 光に 3 日間曝露したのちには、刺激の 8 分後に計測された網膜超酸化物イオンは 60000 をこえた。白色 LED 群でも強度は約 40000 と高かったが、CFL 群でのそれは 20000 から 30000 とより低かった。ところが曝露期間が 9 日にのびたらその傾向が逆転した（図 8B）。光による網膜中の酸化 C ス

トレスが、曝露の初期段階で誘発されることを、この結果は示唆するかもしれない。

CL 強度(1000 倍)

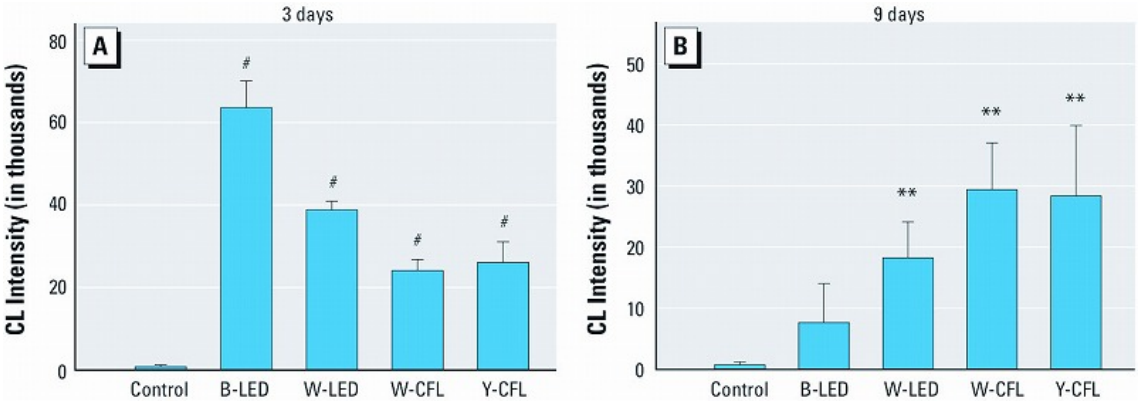

図 8　対照群および青色 LED・白色 LED・白色 CFL・黄色 CFL に 3 日(A)または 9 日(B)曝露したラットに実施された ROS 分析。値は化学無熱光(CL)強度の、平均値プラスマイナス標準偏差で表示した。略語：B, 青；W, 白：Y, 黄。(A)LED 青色光に 3 日曝露すると、ルシジェニン刺激された超酸化物イオン強度は 60000 をこえ、白色 LED 群でも強度は 40000 近くになったが、CFL 群での値は 20000 から 30000 であった。この時点では、対照群での値は約 1000 であった。対照群、曝露群いずれにおいても n=3。(B)9 日間曝露ののちには、青色 LED 群の強度は 8000 に下がり、白色 LED 群れでも 18000 に下がったが、CFL 群れは以前と同水準を維持した。対照群で n=3、曝露群で n=8。

タッキー事後検定つき ANOVA で対照群れと比較したとき、*p＜0.01、**p＜0.001。

検討

網膜の光損傷は、曝露期間と、網膜に達する光のレベル(網膜照射量)に依存する。病理学的過程は波長にも依存する(Organisciak and Vaughan 2010)。本研究が示唆するのは、白色ラット実験動物が LED 光に曝露すると、機能的 ERG 研究・IHC・TUNEL および TEM 観察が証明したように、網膜損傷が誘発されうるということである。LED 光曝露後に生成された ROS により証明されたように、この損傷が、網膜組織内で青色光により誘発された酸化ストレスに関係しうることも、本研究結果は示唆している。

ERG 結果が示すのは、LED 光曝露後の網膜における機能損傷である。白色および青色 LED 群が 9 日ないし 28 日曝露後に示したのは、b 波振幅の相当な減少であった。形態学的な結果が示唆するところによると、周期的白色 LED 光は 9 日以内に網膜外部を損傷しうるし、曝露期間が延長すればさらなる悪化もおこりうる。生後 2 から 3 カ月のスプラーグ・ダウリーラットにおいては、ONL は通常 12 から 14 列の核よりなるが、曝露したら 4 から 5 列にまで減少していた。OS と IS は消失していたし、RPE も損傷ないし消失していた。しかし表 4F に示したように、黄色 CFL 曝露後の、光受容体の損傷はより小さかった。機能学的および形態学的な研究結果が示唆するのは、全照射量よりもむしろ波長と SPD が、網膜

の光化学的損傷に寄与する、決定的な危険要因であるということである。LED 光の惹起する細胞死滅が、酸化ストレス下での固有な細胞死過程にしたがっておこりうることも、結果により示唆される。Sliney (1984)の計算によると、照明具の明るさが同じなら、ラットの網膜における照射量は、ヒトにおけるそれより少なくとも 60 パーセントは大きい。本研究での光照射は、夜行性の活動パターンに適合するように 1800 時間から始められたが、この照射時間が、光損傷に対するラットの感受性を高めた可能性もある。したがって、LED 光損傷に対する行動スペクトルの慎重な検討が、重要な課題として残されている。

網膜は身体のなかでも、酸素をもっとも多量に消費する組織のひとつであり、酸化ストレスにも敏感である(Yu and Cringle 2005)。光受容体劣化の重大な危険要因である酸化ストレスは、網膜組織内部での有毒 ROS 生成により惹起される。網膜は、特に OS または RPE での、解毒あるいは合成に関与する酵素を保有している(Newsome et al. 1990)。本研究では CFL の光毒性を、典型的な白色 LED とも比較した。白色 LED 光は、ストレスに誘発される防御機構に関与する酵素の、閾値を超過するエネルギーを搬送する(Behar-Cohen et al. 2011)ので、そのような白色 LED への曝露は、網膜外部に深刻な損傷をおこしうる。そういう潜在的な網膜損傷を防止ないし軽減するために、色温度の低い LED の比率を自家市場ではふやそうとしている製造者もある(U.S. Department of Energy 2012)。

光化学的損傷は、低強度の慢性的な光曝露がひきおこす障害の、主要な原因である。Noell (1980)によると、損傷細胞内の光感受性分子に対する光の直接の作用が、最初の損傷をおこす。それにつづく二次的な損傷は、第一次の損傷過程を、同一細胞内で継続させることもあれば、他の細胞に拡張させることもある(Noell 1980)。重要なのは、光損傷が酸化事象をふくむということである(Lohr et al. 2006)。本研究においては、原因と結果を簡単に分析するために、曝露期間をさまざまにかえた（図 1)。酸化ストレスを誘発するに十分なほど強力なエネルギーを、LED 光が搬送することがわかった（図 8)。この結果は、光曝露ラットにおける網膜神経細胞の遺伝子の質が、光受容体細胞損失の ERG・b 波推定値と相関するという、Noell (1980)の観察と一致している。とりわけ回復不可能な ERG・b 波として検知されるように、受容体の 80%超を損傷するに十分なほど光が強いときには、酸化ストレスは、光損傷の発症に寄与しうる。また本研究の組織学的分析が示唆するところによれば、細胞死が光曝露後ただちにおこることはまずなく、損傷した網膜神経細胞は機能を喪失しながらも、酸化変性した脂質・核酸・蛋白質とともに網膜層に存在する。

結論

LED は近未来において、主要な家庭用光源になると期待されている。ある種の LED 光への曝露は網膜損傷を誘発しうるし、違った種類の商業用の光源による損傷を比較検討するのにも、本研究の動物実験は資するところがあろう。網膜光損傷の実験には通常白色ラットが使用される(Collie et al. 2011)。暗環境で 14 日間飼育されたラットの網膜は、正常に色素をもつ網膜よりも、光に誘発される障害に敏感である(Organisciak and Vaughan 2010)。

青白（相関色温度が高い）LED の SPD は、回復不可能な網膜神経細胞死をラットでおこす、主要な短波長成分をふくむことも、本研究結果は示している。本動物実験はそれだけでなく、いまや家庭用照明に導入されている白色 LED の SPD が、CFL（あるいは、青色光をほとんど出さない白熱電球）とくらべたときにリスクがあることを、理論的に導けることを示してもいる。光化学的損傷は急性症状をおこすのではなく、それどころか青色光曝露は累積的に受容体を喪失させうるので、青色光の危険を分析する際には、日常的な曝露による慢性的効果の危険を除外することができない。

最初の損傷が光化学的効果によるものであるかどうかにかかわらず、LED 光による損傷は波長と照射期間に依存する。損傷が外節やミトコンドリアや、その他の細胞小器官に局在するか否かに関係なく、網膜神経細胞の全体が影響をこうむる。自家用光源程度の LED 光度が網膜損傷をおこすとわかったのは、白色ラット実験動物であったので、正常に色素をもつヒトの網膜に対する危険については、さらに研究されねばならない。