

第 102 回 日本眼科学会総会 宿題報告 II

視覚における情報処理機構

色覚の個人差と分子生物学

北 原 健 二

東京慈恵会医科大学眼科学教室

要 約

日本人男性における正常色覚および先天赤緑色覚異常の色覚の個人差について、分子生物学的ならびに心理物理学的に検討した。

1. 正 常 色 覚

仮性同色表と Nagel アノマロスコープ I 型により正常色覚と判定した 72 名の日本人男性を対象とした。Quantitative polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism (PCR-SSCP) 法により遺伝子を解析し、表現型との関係について検討した。その結果、赤遺伝子 1 個に対する緑遺伝子数は 1~4 個まで分布し、1 個の者が 27 名 (38%)、2 個が 29 名 (40%)、3 個が 13 名 (18%)、4 個が 3 名 (4%) であった。赤・緑遺伝子における多型性について解析した結果、赤視物質のアミノ酸残基 180 番目がセリン (Ser¹⁸⁰) の被検者が 56 名 (78%)、アラニン (Ala¹⁸⁰) が 16 名 (22%) であった。緑視物質においては、Ala¹⁸⁰ の被検者が 65 名 (90%)、Ser¹⁸⁰ が 7 名 (10%) であった。

Rayleigh 等色における赤と緑の混色光に対する赤色光の割合 {赤/(緑+赤)} は、平均値±標準偏差が 0.564±0.026 であり、その分布は 2 峰性を呈した。これらの等色値と赤視物質の Ser¹⁸⁰ 群/Ala¹⁸⁰ 群の多型性との間には相関関係があった ($p<0.001$)。網膜における赤/緑錐体比の個人差について検討するため、交照法により比視感度を測定し、分光感度が赤錐体系反応 $L(\lambda)$ と緑錐体系反応 $M(\lambda)$ の和 $\{k L(\lambda)+M(\lambda)\}$ で表せると仮定して k 値を求めた。その結果、赤視物質における Ser¹⁸⁰ 群では 1.89 ± 1.44 、Ala¹⁸⁰ 群では 1.85 ± 1.02 であった。さらに、赤緑色対立応答の個人差について検討するため、検査光を視角 1 度、提示時間を 200 msec とし、高輝度白色背景下における分光感度を測定し、赤緑色対立応答が赤錐体系

反応と緑錐体系反応の差 $\{L(\lambda)-k' M(\lambda)\}$ で表せると仮定し、 k' 値を求めた。 k' 値は赤視物質における Ser¹⁸⁰ 群で 1.38 ± 0.06 、Ala¹⁸⁰ 群で 1.49 ± 0.07 であった。

以上の結果、Rayleigh 等色の個人差の一要因として赤・緑視物質の違いが関与していることが推察された。また、比視感度からみた赤/緑錐体比、赤緑色対立応答のいずれにも個人差が確認された。

2. 先天赤緑色覚異常

アノマロスコープにより先天赤緑異常と診断された 21 例について、quantitative PCR-SSCP 法により遺伝子を解析し、表現型と遺伝子型との関係について検討した。その結果、第 1 異常 10 例では、全例ともに赤緑融合遺伝子を有し、これに緑遺伝子が続くタイプと、緑遺伝子が欠失したタイプが確認された。第 2 異常では、全例ともに赤遺伝子を有し、これに続く緑遺伝子が欠失したタイプと、緑赤融合遺伝子が続くタイプが確認された。第 1 異常 10 例中 8 例、第 2 異常 11 例中 10 例では、遺伝子型から表現型の説明が可能であった。遺伝子型で表現型が説明困難であった 1 例は、分光特性の異なる 2 種類の赤緑遺伝子を有するにもかかわらず、2 色型色覚と診断された。他の 2 例は、1 種類の赤緑遺伝子のみににもかかわらず、異常 3 色型色覚と診断された。

以上、先天赤緑異常の遺伝子型にも種々のタイプが確認され、表現型と比較検討した結果、遺伝子型から説明困難な例が存在した。一要因として、アノマロスコープによる 2 色型と異常 3 色型の診断には限界があることが推察された。(日眼会誌 102: 837—849, 1998)

キーワード：色覚, Rayleigh 等色, 先天赤緑色覚異常, 視物質, 分光感度

別刷請求先：〒105-8461 東京都港区西新橋 3-25-8 東京慈恵会医科大学眼科学教室 北原 健二

(平成 10 年 11 月 4 日受付, 平成 10 年 11 月 5 日受理)

Reprint requests to: Kenji Kitahara, M.D. Department of Ophthalmology, Jikei University School of Medicine, 3-25-8 Nishi-shinbashi, Minato-ku, Tokyo 105-8461, Japan

(Received November 4, 1998 and accepted in revised form November 5, 1998)

Individual Variations in Color Vision and its Molecular Biology

Kenji Kitahara

Department of Ophthalmology, Jikei University School of Medicine

Abstract

Individual variations in normal color vision and congenital red-green color vision defects in Japanese males were investigated using both psychophysics and molecular biology techniques.

1. Normal color vision

We studied 72 Japanese males who were diagnosed as having normal color vision using the Ishihara plates test and Nagel model I anomaloscope. The structure of the gene arrays of the X-linked L- and M-pigment genes was determined using quantitative PCR-SSCP (polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism). We found the following variations of the number of M-pigment genes: 27 (38%) of these men had only one M-pigment gene, 29 (40%) had two, 13 (18%) had three and 3 (4%) had four. Two common polymorphisms were found at amino acid residue 180 of both L- and M-opsin, of the total 56 (78%) were Ser and the other 16 (23%) were Ala in the L-pigment and of the total 65 (90%) were Ala and the other 7 (10%) were Ser in the M-pigment.

The Rayleigh match midpoints fell within the normal range, however there were two fairly distinct groups with consistent differences in each group. The mean values of the proportion of red in a mixture of red and green were 0.564 ± 0.026 (mean $\pm$ standard deviation). Correlation was found only between the Rayleigh match midpoint and the polymorphism at residue 180 of L-pigment.

In order to estimate the variations of L/M cone ratio in the retinae the spectral sensitivities using heterochromatic flicker method were measured. Using the hypothesis that the luminosity function is proportional to the sum of L- and M-cone spectral sensitivity ($k L(\lambda) + M(\lambda)$), the constant k values were obtained. The k values for the subjects with

Ser¹⁸⁰ and Ala¹⁸⁰ L-pigment were 1.89 ± 1.44 and 1.85 ± 1.02 respectively. Furthermore, in order to study the variation of information processing system, the spectral sensitivities for 1 degree, 200-ms test flash on a white background were measured. Using the hypothesis that the spectral sensitivity is proportional to the difference of L- and M-cone spectral sensitivity ($L(\lambda) - k' M(\lambda)$), the k' values were obtained. The k' values for the subjects with Ser¹⁸⁰ and Ala¹⁸⁰ L-pigment were 1.38 ± 0.06 and 1.49 ± 0.07 respectively. As a result, it was suggested that there are individual variations in both the L/M cone ratio and the color opponent system.

2. Congenital red-green color vision deficiencies

We studied the structure of the gene arrays of the X-linked L- and M-pigment genes and investigated the relationship between genotype and phenotype in 21 Japanese males comprising 4 protanopia, 6 protanomaly, 7 deutanopia and 4 deuteranomaly. All of the protan subjects had 5' L-M fusion gene with/without the M gene. All of the deutan subjects had a normal L gene with/without 5' M-L fusion gene. Genotype agreed with phenotype in 8 of 10 protan subjects and 10 of 11 deutan subjects. Two of them were diagnosed as abnormal trichromatism in spite of having only one gene. One of them was diagnosed as dichromatism in spite of having two genes that encoded spectrally different pigments. As a result, it was felt that the diagnosis of dichromacy and abnormal trichromacy with an anomaloscope has limitations. (J Jpn Ophthalmol Soc 102: 837-849, 1998)

Key words: Color vision, Rayleigh match, Congenital red-green color vision deficiency, Visual pigment gene, Spectral sensitivity

I 緒 言

1802年, Young¹⁾によって提唱された色覚の3原色説に基づき, ヒト網膜の視細胞に3種類の錐体(細胞)が想定され, 各錐体の波長(分光)特性について検索されてきた. 心理物理学的には, 各錐体系反応を分離して測定する2色閾値法²⁾³⁾とともに, 等色法により得られた等色関数

からヒト錐体の分光特性が推定されている^{4)~8)}. また, 生体眼に各波長の単色光を入射させ, 入射光と眼底からの反射光との差から視物質に吸収される光の量を測定する眼底反射光測定法(網膜濃度法)^{9)~12)}および単一視細胞に各波長の単色光をあて, 透過した光強度から吸収特性を測定する顕微分光法^{13)~16)}などによって研究が進められてきた. これらの研究により, ヒト網膜に長・中, および

短波長光領域にそれぞれ吸収率が高い視物質(以下, 赤, 緑, 青視物質)をもつ 3 種類の錐体(以下, 赤, 緑, 青錐体)の存在が示されていた。しかし, ヒト錐体視物質は量が少ないこと, また不安定で変性しやすいことなどから, 生化学的には確認されていない。ちなみに, 視物質はオプシンという蛋白質に, 発色団としてビタミン A のアルデヒド型であるレチナールが結合した色素蛋白体である¹⁷⁾。各視物質の発色団は共通であることから, 蛋白質(オプシン)の違いによって各視物質の吸収極大波長が決定される。

1986 年, Nathans ら¹⁸⁾によって, これら錐体視物質オプシンをコードする遺伝子が解明され, 蛋白の基本構造であるアミノ酸配列が明らかされた。赤および緑視物質をコードする遺伝子(以下, 赤, 緑遺伝子)は X 染色体の長腕 q の 28(Xq 28)に存在し, 赤遺伝子の下流に緑遺伝子が直列に結合し, 正常男性では赤遺伝子 1 個に対して, 1~複数個の緑遺伝子が接することが示された。赤・緑遺伝子はともに 6 個のエキソンと 5 個のイントロンから構成されている。イントロン部分では緑遺伝子の方がやや短い, エキシソンの塩基配列数は両者で等しく, 赤および緑視物質蛋白ともに 364 のアミノ酸から成り, 視細胞の外節における膜を 7 回貫通する膜蛋白と推察された。また, 両者の塩基配列の相同性は 98% と高く, 赤視物質と緑視物質では 364 のアミノ酸のうち 15 個が異なるのみである。さらに, Nathans ら¹⁸⁾の論文には正常赤遺伝子において, エキソン 3 の 180 番目のアミノ酸がセリン(以下, Ser¹⁸⁰)の場合と, アラニン(Ala¹⁸⁰)の場合があることが塩基配列の違いから解読されていた。つまり, 正常視物質遺伝子においてもアミノ酸配列が異なる多型性(poly-morphism)が存在することが示されていた。

1991 年に Oprian ら¹⁹⁾, 1992 年に Merbs ら²⁰⁾によって, 赤, 緑, 青遺伝子として, それぞれの cDNA (complementary DNA) をヒト胎生腎細胞に取り込ませ, 3 種類の錐体視物質が作製され, それぞれの分光吸収特性が明らかにされた。これまで抽出できなかった 3 種類の錐体視物質が分子生物学的に確認されたことは画期的な成果といえる。さらに, Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の 2 種類の多型性についても分光吸収特性が検索され, 前者の方が後者より吸収極大波長が長波長側(赤側)に移行していることが示された²⁰⁾。

一方, 先天赤緑色覚異常に関しては, 一つの赤または緑遺伝子が赤遺伝子部分と緑遺伝子部分から成るハイブリッド遺伝子(hybrid gene)説が提唱された²¹⁾。ハイブリッド遺伝子は融合遺伝子(fusion gene)とも呼ばれる²²⁾。組み換えはイントロン部分で生じるが, 組み換えが起こるイントロンの部位により数種類の融合遺伝子が存在する。融合遺伝子においては組み換えが起きるイントロンの部位によって分光吸収特性が異なるが, 正常視物質と同様に, 融合遺伝子から発現する視物質の分光吸収

特性が示された²³⁾²⁴⁾。これまで謎であった異常 3 色型色覚における正常と異なる視物質の分光特性が明らかにされたのである。

これらの錐体視物質遺伝子の解明により, 人間の視覚反応を扱う心理物理学と分子生物学という 2 つの全く独立した研究分野の成果が比較検討されつつある。また, これらの成果により心理物理学が抱えていた疑問点も分子生物学的に説明されようとしている。そこで宿題報告では, 正常色覚および先天赤緑色覚異常における色覚の個人差の問題を取り上げ, 分子生物学的ならびに心理物理学的に検討した。

II 実験方法

1. 正常色覚

1) 対象

実験内容について十分に説明し, 同意が得られた正常色覚の日本人男性ボランティア 72 名を対象とした。石原色覚検査表(38 表, 国際版)および Nagel アノマロスコープ I 型²⁵⁾²⁶⁾(Schmidt & Haensch 社製)により正常色覚であることを判定した。

2) 分子生物学的検査

対象者の末梢静脈血 10 ml を採取し, リンパ球からゲノム DNA を抽出した。遺伝子解析には当教室の山口ら²⁷⁾が開発した quantitative PCR-SSCP(polymerase chain reaction-single strand conformation polymorphism)法を用いた。まず, 赤遺伝子と緑遺伝子数の比を求めるため, 赤遺伝子を 1 個¹⁸⁾と仮定し, 得られた DNA を鋳型として, 赤・緑遺伝子のプロモーター領域を共通のプライマーによって PCR 法を施行した。得られた PCR 産物を SSCP 法により赤遺伝子と緑遺伝子を鑑別してその比を定量した。プロモーター領域の解析例を図 1 に示した。同様に, エキソン 5 に対しても赤遺伝子と緑遺伝子の比を分析し, 融合遺伝子が存在しないことを確認した。次に, 赤・緑遺伝子の多型性について検索するため, PCR-SSCP 法によってプロモーターおよび全エキソンについて分析した。また, 赤視物質の吸収特性に影響を与える 180 番目のアミノ酸が Ser か Ala かについても分類した。

得られた赤・緑遺伝子数の比および多型性と, Ray-

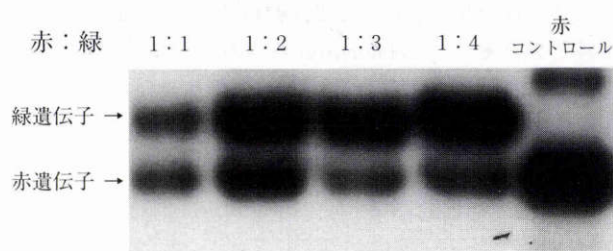


図 1 プロモーター領域における赤/緑遺伝子数の比の解析例。

leigh 等色値との関係について比較検討した。

3) 心理物理学的検査

(1) Rayleigh²⁸⁾均等(等色²⁹⁾)

Rayleigh 等色の測定には、Nagel アノマロスコープ I 型 (Schmidt & Haensch 社製) を安定化電源とともに使用した。検査視標は視角 2 度の上下の 2 分視野であり、上半には波長 671 nm の赤と 546 nm の緑の混色光、下半には波長 589 nm の黄の単色光が提示される。赤と緑の混色視野では、赤と緑の混合比が 0 (緑) ~ 73 (赤) までの混色目盛により連続的に変化する。黄の単色視野では、その明るさが 0 ~ 87 までの単色目盛により連続的に変わる。測定は明室下で行い、まず、被検者ごとに混色目盛を検者が変化させることにより、およその等色値とその範囲を求めた。次に、得られた等色成立範囲内で混色目盛を 4 分の 1 目盛ずつランダムに変化させ、絶対等色値とその範囲を測定し、中央値をもって測定値とした。

(2) 比視感度

網膜における赤、緑錐体の比を推定するため、交照法 (heterochromatic flicker method) により比視感度を測定した。対象は、正常色覚男性 72 名中の 45 名である。測定には 3 系列のマックスウェル視光学系を使用し、背景野は、60 photopic troland (td) で外径が視角 10 度、内径が視角 2 度のリング状とし、その中央に視角 2 度の検査視標を提示した。検査野には 60 td の基準の白色参照光と約 10 nm 間隔で 400 ~ 700 nm までの検査光を 15 cycle の周波数で交互に提示し、ちらつき感覚が最小、あるいは消失する点を求めた。比視感度が赤錐体系反応 $L(\lambda)$ と緑錐体系反応 $M(\lambda)$ の和 $|k L(\lambda) + M(\lambda)|$ で表せると仮定し、両錐体系反応の和と曲線とが最も一致する k 値を最小自乗法により求めた。赤、緑錐体系の分光感度としては Smith ら⁴⁾⁵⁾の基本分光感度 (fundamental spectral sensitivities) の値を用いた。

(3) 白色背景下における分光感度

赤緑色対立応答の個人差について検索するため、2 系列のマックスウェル視光学系を用いて、高輝度白色背景下における分光感度を測定した。対象は、正常色覚男性 72 名中 45 名である。背景野の大きさを視角 10 度、明るさを 1,000 td とした。検査野を視角 1 度の円形視標とし、提示時間を 200 msec に設定した。得られる分光感度曲線は波長 450 nm, 525 nm, および 600 nm にピークを有する 3 峰性を呈し、中 ~ 長波長領域の反応が赤緑色対立応答とされる^{30) ~ 32)}。Thornton ら³²⁾のモデルに従い、赤緑色対立応答に相当する分光感度が赤錐体系反応と緑錐体系反応の差 $|L(\lambda) - k' M(\lambda)|$ で表せると仮定し、比視感度における k 値と同様に k' 値 (伝達係数) を求めた。

2. 先天赤緑色覚異常

1) 対象

Rayleigh 等色の測定により先天赤緑色覚異常と診断された男性ボランティア 21 名を対象とした。分子生物学

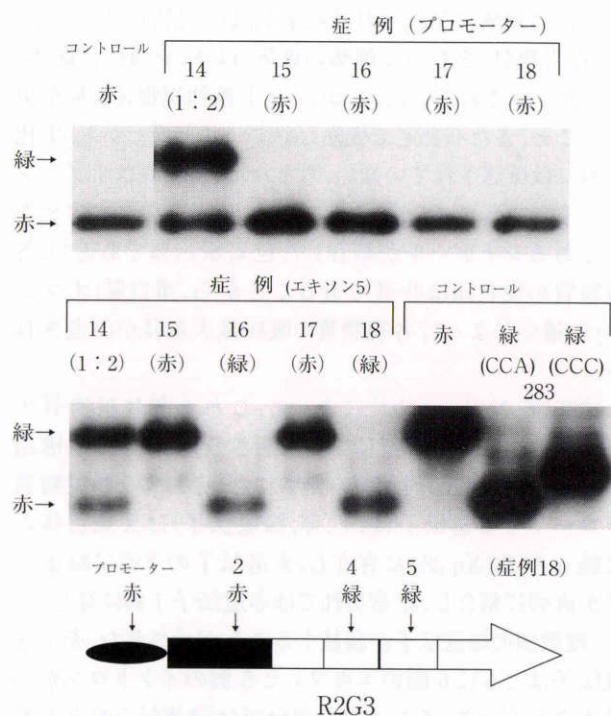


図 2 融合遺伝子型の解析例。

症例 14 ~ 18 におけるプロモーター領域 (上段) およびエキソン 5 (中段) の解析から決定された症例 18 の遺伝子型 (下段) を示す。

的解析については、十分な説明を行い同意が得られた者、および被検者本人または家族から検査の希望があった者である。

2) 分子生物学的検査

正常者と同様に、末梢静脈血 5 ~ 10 ml を採取し、ゲノム DNA を抽出し、得られた DNA を鋳型として quantitative PCR-SSCP 法により赤/緑遺伝子比を解析し、融合遺伝子の有無を決定した。症例 14 ~ 18 におけるプロモーター領域およびエキソン 5 の解析をそれぞれ図 2 の上段および中段に、これらの解析により決定された症例 18 の遺伝子型を図 2 の下段に示した。同様の方法により全症例の遺伝子型について解析し、得られた遺伝子型とアノマロスコープによる表現型とを比較した。

3) 心理物理学的検査

正常色覚者と同様に、アノマロスコープにより Rayleigh 等色を測定し、Rayleigh 等色値およびその範囲により、第 1 色弱、第 1 色盲、第 2 色弱、および第 2 色盲に区分した。

III 結 果

1. 正常色覚

1) 分子生物学的検査

正常色覚の日本人男性における赤遺伝子 1 個に対する緑遺伝子数は、1 個の被検者が 27 名 (38%), 2 つが 29 名 (40%), 3 つが 13 名 (18%), 4 つが 3 名 (4%) であった。表

表 1 緑遺伝子数の変異

数	日本人 n = 72 (本研究)	白人 n = 113	日系米人 97	アフリカ系 81
	Jørgensen ら (1990)			
1	38	22	48	42
2	40	51	31	42
3	18	19	15	10
4 以上	4 (%)	8	5	6 (%)

日本人では, Jørgensen ら³³⁾ の日系米人と類似の結果であり, 緑遺伝子 1 個のものが白人と比較して多い傾向が示された。

表 2 Ser¹⁸⁰/Ala¹⁸⁰ の多型性

		日本人 (本研究)	白人	アフリカ系	日系米人
		(Deeb ら 1990, 1995)			
赤	Ser ¹⁸⁰	78	62	80	84
	Ala ¹⁸⁰	22 (%)	38	20	16 (%)
緑	Ala ¹⁸⁰	90	92	—	84
	Ser ¹⁸⁰	10 (%)	8	—	16 (%)

Deeb ら³⁴⁾³⁵⁾の結果とともに示した。

Ser¹⁸⁰: セリン Ala¹⁸⁰: アラニン

1 に, これらの結果を Jørgensen ら³³⁾の報告の値とともに示した。

赤・緑遺伝子における多型性について解析した結果, 赤視物質で 13 か所, 緑視物質では 7 か所に存在した。これらの多型性についての詳細は別に報告する予定であるが, ここでは分光吸収特性が判明している 180 番目のアミノ酸について検討した。赤視物質のアミノ酸残基 180 番目が Ser の被検者が 56 名 (78%), Ala が 16 名 (22%) であった。緑視物質においては, アミノ酸残基 180 番目が Ala の被検者が 65 名 (90%), Ser が 7 名 (10%) であった。表 2 に, これらの結果を Deeb ら³⁴⁾³⁵⁾の結果とともに示した。

2) 心理物理学的検査

(1) Rayleigh 等色

正常色覚日本人 72 名における Nagel アノマロスコープによる Rayleigh 等色の測定結果を図 3 に示した。縦軸は黄の単色目盛, 横軸は赤緑混色目盛である。混色目盛の平均値±標準偏差は 41.18 ± 1.925 であり, 最大値 45.0 から最小値 35.75 まで分布していた。単色目盛の平均値±標準偏差は 14.75 ± 0.79 であり, 13.0~17.0 までの分布であった。また, Rayleigh 等色に要した赤と緑の混色光に対する赤色光の割合 {赤/(緑+赤)} は, 平均値±標準偏差 0.564 ± 0.026 であった。

赤遺伝子 1 つに対する緑遺伝子数とアノマロスコープにおける Rayleigh 等色との関係を図 4 に示した。横軸は Rayleigh 等色に要した緑と赤の混色光に対する赤色光の割合 {赤/(緑+赤)} であり, 縦軸は被検者数である。緑遺伝子数と Rayleigh 等色値との関係を χ^2 検定により解析した結果, $p > 0.05\%$ で相関関係はみられなかった。

赤視物質の Ser¹⁸⁰ 群/Ala¹⁸⁰ 群の多型性と Rayleigh 等色との関係を図 5 に示した。図 4 と同様に, 横軸は Rayleigh 等色に要した赤色光の割合 {赤/(緑+赤)} であり, 縦軸は被検者数である。Ser¹⁸⁰ 群における赤色光の割合の平均値±標準偏差は 0.556 ± 0.002 , Ala¹⁸⁰ 群では 0.591 ± 0.020 であった。Ala¹⁸⁰ 群は Ser¹⁸⁰ 群と比較して大きな値, つまり Rayleigh 等色に赤色光を多く要しており, Ser¹⁸⁰ 群/Ala¹⁸⁰ 群と Rayleigh 等色値とには標本 t 検定 (Welch 法) により相関関係が認められた ($p < 0.001$)。

緑視物質の Ala¹⁸⁰ 群/Ser¹⁸⁰ 群の多型性と Rayleigh 等色との関係を図 6 に示した。横軸が Rayleigh 等色に要した赤色光の割合, 縦軸が被検者数である。Ala¹⁸⁰ 群は 7 名と少ないため明確ではないが, Rayleigh 等色に要した赤色光の割合が少ない傾向が示された。しかし, 統計学的に相関関係は認められなかった。

(2) 比視感度

交照法により測定された比視感度の代表 2 例を図 7 に

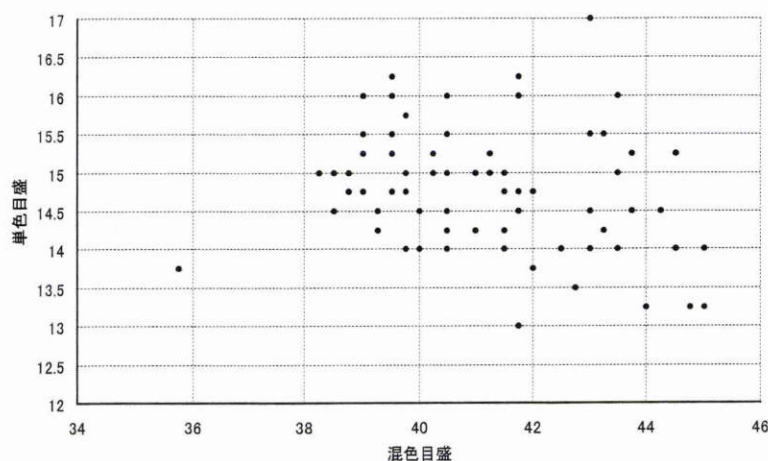


図 3 Rayleigh 等色中央値の分布。

縦軸は黄の単色目盛, 横軸は赤緑混色目盛。混色目盛の平均値±標準偏差は 41.18 ± 1.925 , 単色目盛の平均値±標準偏差は 14.75 ± 0.79 であった。

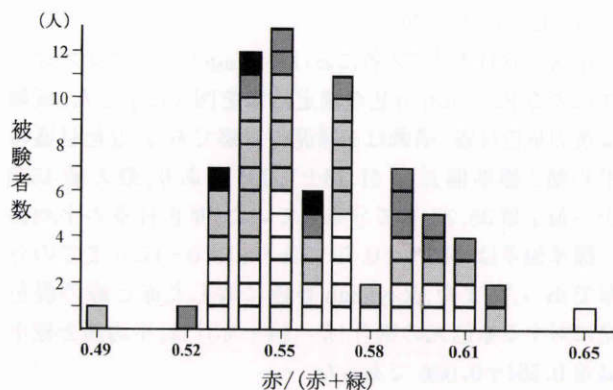


図4 Rayleigh 等色値と緑遺伝子数との関係.

縦軸は被検者数, 横軸は, Rayleigh 等色に要した緑と赤の混色光に対する赤色光の割合 $|\text{赤}/(\text{緑}+\text{赤})|$ である. 緑遺伝子数と Rayleigh 等色値とは相関関係はみられなかった ($p>0.05\%$). 緑遺伝子数: □ 1 ■ 2 ■ 3 ■ 4

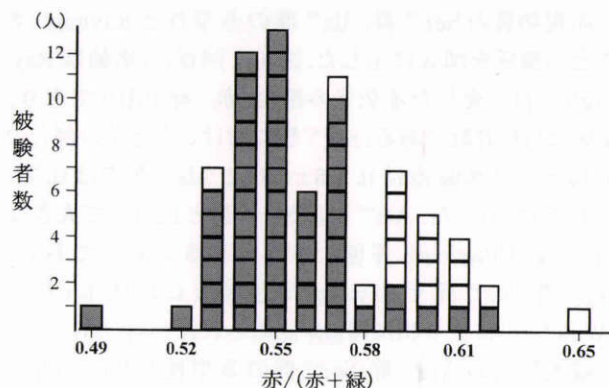


図5 赤視物質のセリン(Ser)群/アラニン(Ala)群の多型性と Rayleigh 等色との関係.

図4と同様, 横軸は Rayleigh 等色に要した赤色光の割合であり, 縦軸は被検者数である. Ser 群/Ala 群と Rayleigh 等色値とは相関関係が認められた ($p<0.001$). ■: Ser¹⁸⁰ □: Ala¹⁸⁰

示した. 図中の点線は, 比視感度が赤錐体系と緑錐体系反応の和 $|kR(\lambda)+G(\lambda)|$ (但し, $R(\lambda)$, $G(\lambda)$ はそれぞれ赤および緑錐体の分光感度) と比視感度曲線とが最も一致する k 値を最小自乗法により求めたものである. 横軸は波長の逆数の wavenumber (波数) であるが, 上段に波長を示した. 縦軸は対数感度 ($\log \text{photon}^{-1} \text{sec deg}^2$) である. 2名の比視感度曲線はわかりやすいように任意に上下に移動させて示してある. いずれも Ser¹⁸⁰ 赤視物質 (Ala¹⁸⁰ 緑視物質群) の被検者であるが, k 値が異なっている. つまり, k 値の違いは視物質の分光吸収特性の違いではなく, 網膜における赤錐体と緑錐体の比が異なっている可能性が示されている.

45名における k 値の分布を, Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の被検者別に図8に示した. 縦軸は k 値 (赤/緑錐体比) である. Ser¹⁸⁰ 赤視物質群の k 値は 0.59~8.67 までの分布を示し, 平均値 $\pm$ 標準偏差は 1.89 ± 1.44 ,

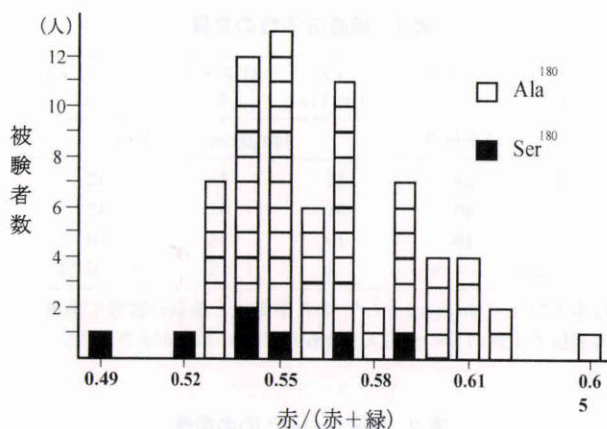


図6 緑視物質の Ala¹⁸⁰ 群/Ser¹⁸⁰ 群の多型性と Rayleigh 等色との関係.

図4と同様に, 横軸が Rayleigh 等色に要した赤色光の割合, 縦軸が被検者数である. Ala¹⁸⁰ 群では, Rayleigh 等色に要した赤色光の割合が小さい傾向が示されているが, 統計的に相関関係は認められなかった. □: Ala¹⁸⁰ ■: Ser¹⁸⁰

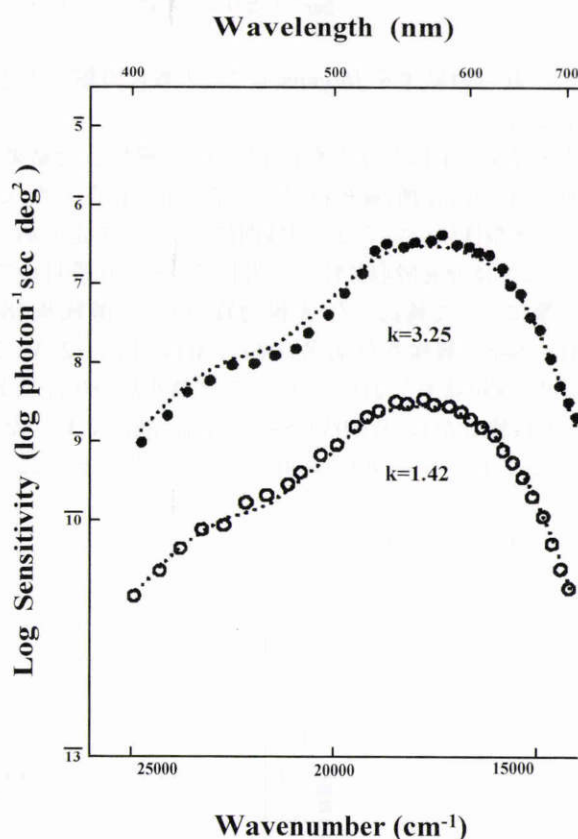


図7 代表2例における比視感度.

図中の点線は, 比視感度が赤錐体系 $|R(\lambda)|$ と緑錐体系反応 $|G(\lambda)|$ の和 $|kR(\lambda)+G(\lambda)|$ で表せるものと仮定し, 比視感度曲線と最も一致する k 値を最小自乗法により求めたものである. 横軸は波数 (wavenumber) (下段), 上段に波長を示した. 縦軸は対数感度 ($\log \text{photon}^{-1} \text{sec deg}^2$) である. 比視感度曲線はわかりやすいように任意に上下に移動させて示してある. いずれも Ser¹⁸⁰ 赤視物質 (Ala¹⁸⁰ 緑視物質群) の被検者であるが, k 値が異なっている. ●: Case YN ○: Case MY

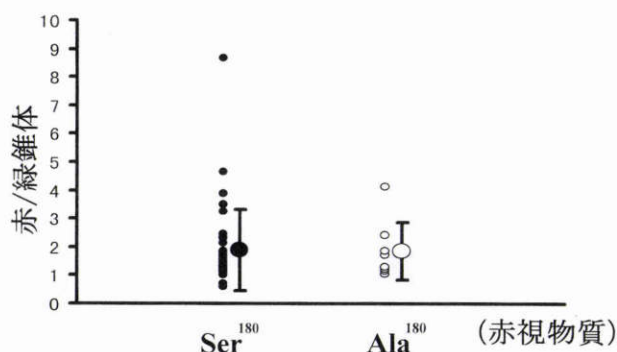


図 8 k 値の分布.

Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の被検者別に示した. 同一視物質を有していても k 値が異なる. つまり, 網膜における赤と緑錐体の比が異なる可能性が示された. ●: 1.89 ± 1.44 (n=37) ○: 1.85 ± 1.02 (n=8)

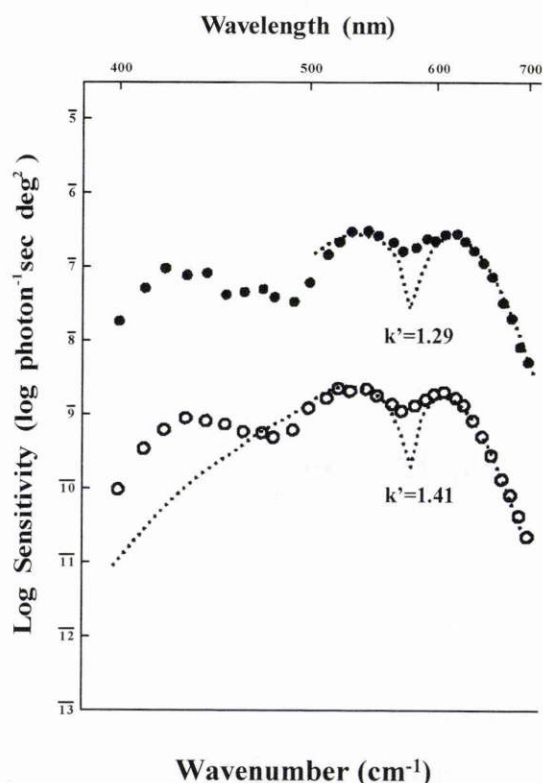
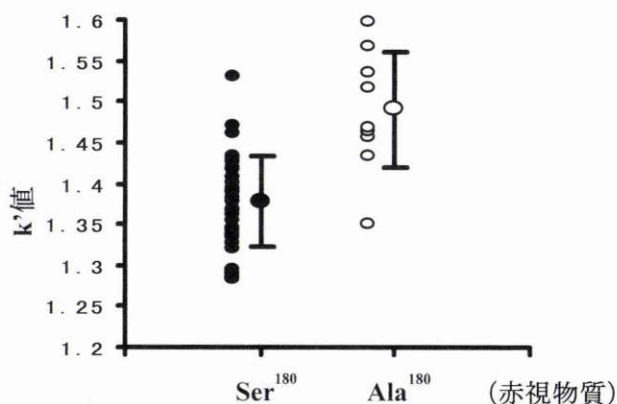


図 9 高輝度(1,000 td)白色背景下における分光感度曲線の代表 2 例の測定結果.

図中の点線は, 分光感度曲線と $|R(\lambda) - k'G(\lambda)|$ とが最も一致する k' 値を伝達係数として, 最小二乗法により求めたものである. いずれも Ser¹⁸⁰ 赤視物質の被検者であるが, 比視感度から得られた k 値と同様に, 同一視物質を有していても k' 値が異なる. ●: Case YN ○: Case AK

Ala¹⁸⁰ 緑視物質群では $1.06 \sim 4.13$ まで分布し, 平均値 ± 標準偏差は 1.85 ± 1.02 であった. 同一視物質を有していても k 値は同一ではなく, 網膜における赤と緑錐体の比が異なる可能性が示された.

(3) 高輝度白色背景下の分光感度

図 10 k' 値の分布.

Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の被検者別に示した. 縦軸は k' 値(伝達係数)であり, 同一視物質を有していても k' 値が異なり, 赤緑色対立応答にも個人差があることが示された. ●: 1.38 ± 0.06 (n=36) ○: 1.49 ± 0.07 (n=10)

代表 2 例の高輝度(1,000 td)白色背景下における分光感度曲線の測定結果を図 9 に示した. 図中の点線は, Thornton ら³²⁾ のモデルに従い, 分光感度曲線と $|R(\lambda) - k'G(\lambda)|$ とが最も一致する k' 値を伝達係数として, 最小自乗法により求めたものである. いずれも赤視物質においては Ser¹⁸⁰, 緑視物質では Ala¹⁸⁰ の被検者であるが, 比視感度から得られた k 値と同様に, 同一視物質を有していても k 値が異なっている. したがって, この k 値の違いは視物質の分光吸収特性のためではなく, 赤緑色対立応答の相違を示している.

k' 値の分布を, Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の被検者別に図 10 に示した. 縦軸は k' 値(伝達係数)である. Ser¹⁸⁰ 赤視物質の k' 値は $1.28 \sim 1.53$ まで分布し, 平均値 ± 標準偏差は 1.38 ± 0.06 , Ala¹⁸⁰ 緑視物質群では $1.35 \sim 1.60$ までの分布であり, 平均値 ± 標準偏差は 1.49 ± 0.07 であった. 同一視物質を有していても k' 値は同一ではなく, 赤緑色対立応答にも個人差があることが示された.

2. 先天赤緑色覚異常

対象 21 名のアノマロスコプによる診断の内訳は, 第 1 色盲 4 名, 第 1 色弱 6 名, 第 2 色盲 7 名, 第 2 色弱 4 名であった.

第 1 色盲, 第 1 色弱, 第 2 色盲, 第 2 色弱の遺伝子型の結果をそれぞれ図 11~14 に示した. 図中の数値は, Asenjo ら²⁴⁾, および Merbs ら²³⁾ によって報告された各遺伝子型から決定される視物質の分光吸収極大波長である. 括弧内の数値が Merbs らの値である. また, 遺伝子型から想定される視物質の分光吸収極大波長の差を波長差として示した. したがって, 波長差が 0 の場合は, 網膜に発現する赤または緑視物質の分光吸収極大波長は同一であることを示している. 0 以外の場合は, 網膜に赤・緑視物質として分光吸収極大波長を異にする 2 種類以上の視物質が発現していることを示している. つまり, 波長差が 0 の場合は 2 色型色覚(色盲), 0 以外が異常 3 色型色覚

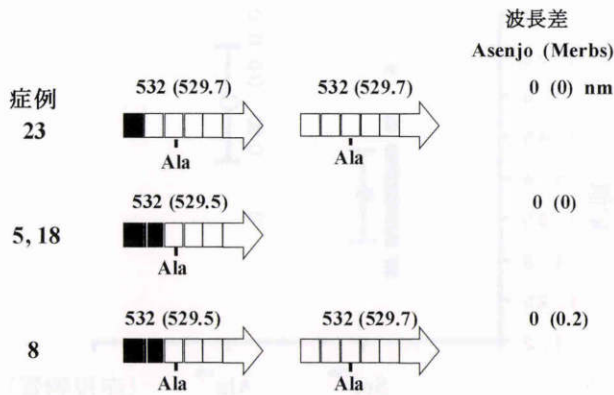


図 11 第 1 色盲の遺伝子型.

図中の数値は, Asenjo ら²⁴⁾と Merbs ら²³⁾によって報告された各遺伝子型から決定される視物質の分光吸収極大波長である(括弧内の数値が Merbs らの値). また, 遺伝子型から想定される視物質の分光吸収極大波長の差を波長差として示した. 波長差が 0 の場合は, 網膜に発現する赤または緑視物質の分光吸収極大波長は同一, 0 以外の場合は, 網膜に赤・緑視物質として分光吸収極大波長を異にする 2 種類以上の視物質が発現する可能性を示している.

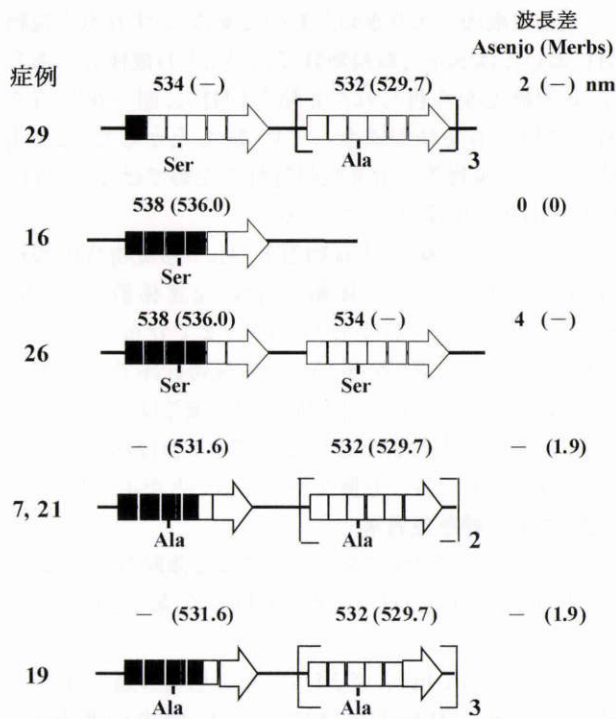


図 12 第 1 色弱の遺伝子型.

図 11 と同様に, 各遺伝子型から決定される視物質の分光吸収極大波長とその差を示した.

(色弱)であることが遺伝子型から推定される.

図 11 は, 第 1 色盲の遺伝子型である. 症例 8 以外は, いずれも波長差は 0 であり, アノマロスコープによる第 1 色盲の診断は, 遺伝子型から説明可能であった. 症例 8 においては, Merbs らの結果によると 2 つの遺伝子型から誘導される視物質の分光吸収極大波長の差は 0.2 nm で

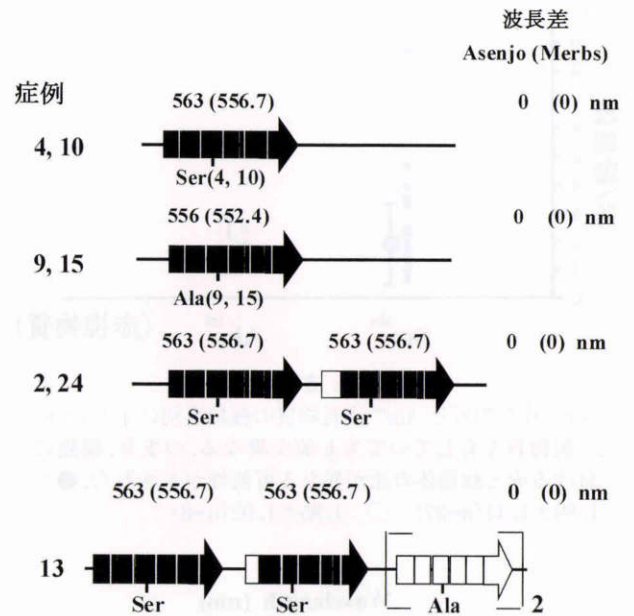


図 13 第 2 色盲の遺伝子型.

図 11 と同様に, 各遺伝子型から決定される視物質の分光吸収極大波長とその差を示した.

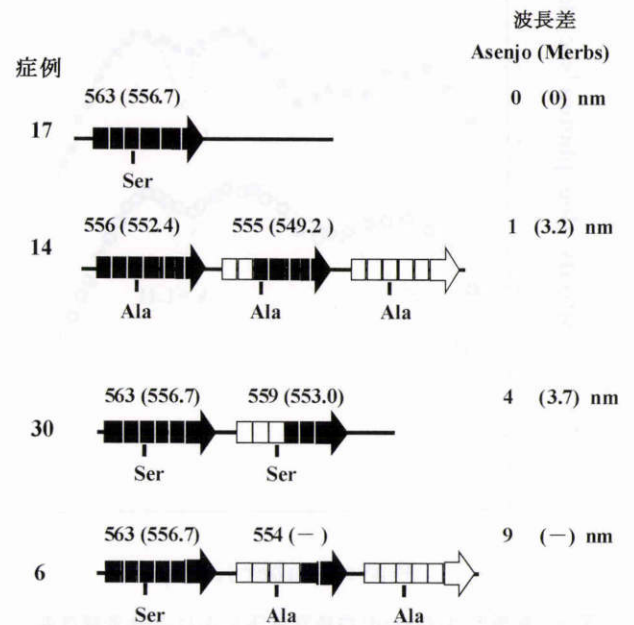


図 14 第 2 色弱の遺伝子型.

図 11 と同様に, 各遺伝子型から決定される視物質の分光吸収極大波長とその差を示した.

ある. 波長差は 1 nm 以下であるが, 厳密には第 1 色弱であることが想定される. 図 12 は, 第 1 色弱の結果であるが, 症例 16 以外は, 波長差が 0 ではなく, 網膜に赤または緑視物質として分光吸収極大波長を異にする 2 種類の視物質が発現する可能性が示され, アノマロスコープによる診断は遺伝子型から説明可能であった. 症例 16 では 1 つの遺伝子のみであり, アノマロスコープによる異常 3 色型色覚の診断は遺伝子型から説明困難であった.

図 13 は第 2 色盲の結果であるが, いずれも波長差は 0

であり、アノマロスコープによる診断結果は、遺伝子型から説明可能であった。図 14 は第 2 色弱の結果である。症例 17 においては、1 つの遺伝子を有するのみであり、アノマロスコープによる診断は遺伝子型から説明困難であった。症例 17 以外は波長差が 0 ではなく、アノマロスコープによる診断は遺伝子型から説明可能であった。

IV 考 按

1. 正 常 色 覚

正常 3 色型色覚においても色感覚が異なることは以前から知られており、等色法(色合わせ法)などによっても個人差が示されていた^{36),37)}。アノマロスコープを用いた Rayleigh 等色においては、等色値が正常とやや異なるタイプが minor color abnormalities と呼称され、種々のタイプが提唱されている³⁸⁾。これらは、等色幅が異常に拡大した weak color normal observer (farbenschwache Trichromaten) と、中央値が正常平均値の ± 2 standard deviation 以上偏位した deviant color normal observer (bedingt normale Trichromate または noch normale Trichromate) に大別される^{39)~41)}。本邦においては、Heinrichs の分類⁴²⁾に従ってアノマロスコープの診断基準が示され、bedingt normale Trichromate (noch normale Trichromate) が、準正常三色型色覚とされてきた⁴³⁾。

Rayleigh 等色値における正常者の分布に関しては、古典的にはいずれも 1 峰性であり正規分布に近似したものであった^{44)~47)}。これに対して、Neitz ら^{48),49)}は外径が 11 度、内径が 3 度のリング視標を用い、黄の単色光と赤緑混色光を交互に提示することにより Rayleigh 等色を測定し、大きくは男性では 2 峰性、女性では 3 峰性であるが、さらに多峰性とみなせることを示した。その後も、正常者の分布が 1 峰性とするもの⁵⁰⁾や、2 峰性を呈する結果⁵¹⁾などが報告されている。また、従来からの測定法である 2 分視野を用いた調整法(method of adjustment)では 1 峰性であるが、リング視標を用いた強制選択法(forced-choice method)では多峰性になることが指摘されている⁵²⁾。

以上の報告は、いずれも白人を対象としたものである。そこで、本研究においては日本人の正常色覚男性を対象に、Nagel アノマロスコープ I 型を使用して Rayleigh 等色を測定したものである。その結果、従来からの調整法にもかかわらず、Winderickx ら⁵¹⁾の結果と同様に、Rayleigh 等色分布は 2 峰性を呈することが確認された。

これらの等色値の個人差に関しては、従来から中間透光体の分光透過率や、視物質の違いが要因として挙げられていた³⁸⁾。また、Lutze ら⁵⁰⁾は Rayleigh 等色の個人差の要因として、視物質の分光特性、視物質の光学濃度、透光体の吸収特性および実験誤差の 4 つの可能性を挙げている。しかし、分光吸収特性が異なる視物質が実際に網膜に発現しているか否かについては不明であった。

このような背景の中、Ser¹⁸⁰ 赤視物質と Ala¹⁸⁰ 赤視物質の 2 種類の多型性において、分光吸収特性が異なることが分子生物学的に確認された²⁰⁾。さらに、Ala¹⁸⁰/Ser¹⁸⁰ 緑視物質の多型性を含み視物質の分光吸収特性の違いが Rayleigh 等色の個人差の要因として関与していることが指摘されている^{51),53)}。本研究においても、Rayleigh 等色の分布とこれらの多型性とに相関があることが示され、等色法に視物質の多型性が関与していることが確認されたといえる。

また、色覚の個人差の要因として、網膜に発現する赤視物質と緑視物質の比が要因として挙げられる。赤・緑錐体の比は種々の方法により推定され、その個人差が指摘されてきた⁵⁴⁾。しかし、赤視物質または緑視物質の多型性の関与については不明であった。本研究では、比視感度から赤/緑錐体比を推定し、Ser 群¹⁸⁰と Ala¹⁸⁰群に分けて検討したものである。その結果、視物質の分光吸収特性の影響を除外しても、両錐体の発現比には個人差があることが確認されたものである。

さらに、赤緑色対立応答の個人差について、高輝度白色背景下における分光感度測定により検討した。その結果、視物質の分光吸収特性の影響を除外しても、赤緑色対立応答に個人差があることが確認された。

緑遺伝子数の変異に関しては、赤遺伝子と緑遺伝子との接合部で不等交叉が生じ、一方の染色体には赤遺伝子に加えて緑遺伝子が重複し、他方の染色体では赤遺伝子に続く緑遺伝子が欠失するものと推察されている¹⁸⁾。一方、赤遺伝子は緑遺伝子の上流に存在することから、赤遺伝子全体の欠失や重複は起こらないものと推察された。本研究における緑遺伝子数の結果(表 1)は、Jørgensen ら³³⁾の日系米人の値とほぼ一致していた。白人では緑遺伝子数を 2 つもつ場合が多いが、日本人では緑遺伝子 1~2 つをもつ者が多く、人種差が推定される。また、本研究結果では緑遺伝子を 5 つ以上もつ例はみられなかった。これらの結果は、赤遺伝子が 1 つと仮定して得られたものであるが、Neitz ら⁵⁵⁾は複数の赤遺伝子が存在する可能性を報告している。これに対して、Neitz らの方法では遺伝子が多く示される危険性も指摘されている⁵⁶⁾。本研究においても、赤・緑遺伝子数の比が整数であったこと、PCR-SSCP 法で赤遺伝子に相当する複数のバンドがみられなかったことなど、複数の赤遺伝子の可能性は示されなかった。しかし、今後さらに検討を要する課題であろう。

180 番目のアミノ酸の変異に関しては、赤遺伝子および緑遺伝子ともに Deeb ら^{34),35)}の日系米人の結果とほぼ同様の割合であった(表 2)。白人の結果と比較すると Ser¹⁸⁰ 赤視物質の割合が高いことが推察されたが、今後さらに対象数を増やして検討したい。

2. 先天赤緑異常

先天赤緑異常は、等色法により異常 3 色型色覚(色弱)

と2色型色覚(色盲)に大別される。異常3色型は3種類の錐体視物質をもっているが、1種類が正常と異なるタイプであり、赤および緑視物質の異常が、それぞれ第1色弱ならびに第2色弱とされる。2色型は、1種類の錐体視物質が欠如したタイプであり、赤および緑視物質の欠如が、それぞれ第1色盲、第2色盲とされてきた。しかし、先天異常の病因に関しては、なお錐体視物質の欠陥か、または視覚伝達系の異常かで論争が続いていた。

生体における視物質の吸収特性を測定できる網膜濃度測定法^{9)~12)}および、心理物理学的に各錐体系の分光感度を分離して測定する選択的順応法³⁾では、2色型における欠損説を支持する結果が示されていた。しかし、前者は異常3色型の異常視物質や青視物質の測定が不可能であったこと、また後者においても2色型と異常3色型の差異が検出できないことから、その限界が指摘されていた。さらに、欠損説では色対立応答などの色覚特性が説明できないとして、Hurvich⁵⁷⁾は3種類の錐体視物質の異常に加えて、神経伝達過程の関与を主張し、伝達系の反応の減少を異常3色型、欠損を2色型とする説を提唱していた。

これに対して、Alpernら⁵⁸⁾は網膜濃度測定法で、第2色弱の異常視物質の検出に成功し、さらにMollon⁵⁹⁾は摘出された第2色盲者の眼球を用いて、17個の視細胞を顕微分光光度計により検索した結果、赤錐体のみで緑錐体がみられなかったことを示していた。さらに、Alpern⁶⁰⁾は錐体視物質の分光特性には個人差があり、一定の群(cluster)を呈し⁶¹⁾、1名の第2色弱者の赤視物質と異常視物質の各々が、2名の第2色盲者が有するそれぞれの赤視物質に一致したことから⁶²⁾、先天赤緑異常では、赤および緑錐体ともに、同一のclusterから由来するとした。すなわち、赤および緑視物質がともに緑視物質のcluster由来であれば第1異常(第1色弱か第1色盲)、赤視物質由来であれば第2異常(第2色弱か第2色盲)であり、両者の分光特性が一致すれば2色型、異なれば異常3色型とする興味ある仮説を提唱していた。

このような時代的背景の中、先天色覚異常の遺伝子が明らかにされ、錐体視物質蛋白の異常に基づくことが示された²¹⁾。つまり、一つの赤または緑遺伝子が赤遺伝子部分と緑遺伝子部分から成る融合遺伝子説が提唱され、融合遺伝子の発現は、赤および緑遺伝子における塩基配列の相同性が高いため、交叉によって相同的組み換え(homologous recombination)が生じたものと推察された。組み換えはイントロン部分で生じるが、組み換えが起こるイントロンの部位により数種類の融合遺伝子が存在する。

融合遺伝子においては組み換えが起きるイントロンの部位によって分光吸収特性が異なることになるが、前述のように赤と緑視物質では364のアミノ酸のうち15個が異なるのみである。さらに、この15個のうち7個のアミノ酸が、両視物質の分光吸収特性の違いに関与してい

るものと推察されており、特に180, 277および285番目のアミノ酸の違いが重視されている⁶³⁾。このうち、277および285のアミノ酸はエキソン5によってコードされている。したがって、エキソン5が赤遺伝子由来であれば、正常赤視物質の分光吸収特性に近似、逆に緑錐体由来であれば、正常緑視物質の分光吸収特性に近似することになる。ここに、これまで謎であった異常3色型色覚における正常と異なる視物質の分光特性が示されたのである。

理論的には、第1異常では、頭側が赤遺伝子、尾側が緑遺伝子から成る赤・緑融合遺伝子を有する。したがって、赤・緑融合遺伝子のみで緑遺伝子が欠失していれば、緑視物質近似の視物質のみが網膜に発現することになり第1色盲となる。一方、融合遺伝子とこれに続く正常緑遺伝子が存在し、両者によって発現される視物質の分光吸収特性が同一であれば第1色盲、異なれば網膜には緑視物質近似と緑視物質の2種類が発現することになり第1色弱となる。一方、第2異常においては、赤遺伝子のみで緑遺伝子が欠失していれば第2色盲である。また、赤遺伝子に緑・赤融合遺伝子が続き、両者によって発現される視物質の分光吸収特性が同一であれば第2色盲、異なれば第2色弱となる。以上は、前述のAlpern⁶¹⁾のcluster説を指示するものであり、心理物理学的成果から導かれた仮説が分子生物学的に確認されたともいえる。しかし、赤または緑視物質と融合遺伝子から発現されるそれぞれに近似の視物質とは最大吸収波長が接近している。したがって、心理物理学的検査法では2色型と異常3色型の診断が困難な例が存在することが考えられる。

本研究においても、第1異常10例では、全例ともに赤緑融合遺伝子を有し、これに緑遺伝子が続くタイプと、緑遺伝子が欠失したタイプが確認された。第2異常では、全例ともに赤遺伝子を有し、これに続く緑遺伝子が欠失したタイプと、緑・赤融合遺伝子が続くタイプが示された。

また、第1異常10例中8例、第2異常11例中10例では、遺伝子型からアノマロスコープによる表現型の説明が可能であった。遺伝子型で表現型が説明困難であった1例は、分光特性の異なる2種類の赤緑遺伝子を有するにもかかわらず、2色型と診断された。他の2例は、1種類の赤緑遺伝子のみににもかかわらず、異常3色型と診断された。

これまでも、Rayleigh等色では2色型と異常3色型の診断上の限界が示されている⁵⁸⁾が、遺伝子型からアノマロスコープによる診断が説明困難な症例が存在した要因の一つとしてアノマロスコープの限界が指摘される。この他の要因として、特に1種類の赤緑遺伝子のみににもかかわらず、異常3色型と診断された例では、濃度の異なった視物質が発現している可能性が示唆される^{64) 65)}。さらに、Rayleigh等色に杆体系反応が関与した可能性も否定できない。

また、融合遺伝子を有する者が赤緑異常の頻度より高

いこと、融合遺伝子を有していても Rayleigh 等色が正常を示す者が存在すること、逆に正常赤・緑遺伝子に加えて緑・赤の融合遺伝子を有していた被検者が第2色盲であったことなどから、すべての視物質遺伝子が網膜に発現するとは限らないことが指摘されている^{(66)~(68)}。実際に、Winderickx ら⁽⁶⁸⁾はゲノム DNA に2種類の緑遺伝子を有していても、網膜には1種類の mRNA しか出現していないことを摘出眼球を用いて示した。これについては、視物質の発現をコントロールしている locus control region (LCR) が赤遺伝子の近傍に想定され、LCR に近い遺伝子ほど発現しやすいものと推察されている⁽⁶⁸⁾。すなわち、正常赤遺伝子・正常緑遺伝子・融合遺伝子の配列であれば、赤遺伝子と最初の正常緑遺伝子が発現し、表現型は正常になるものと推察されている。今後の課題であろう。

以上、分子生物学の技術をもってヒト視物質が合成され、その分光特性が明らかにされたことにより、ヒト錐体視物質の探索に終止符が打たれようとしている。また、色覚理論の第1段階である錐体レベルの分光特性が示された点で、今後の心理物理学的研究に与える影響は大きい。先天赤緑異常の成因に関しても、分子生物学的に視物質の異常であることが確認され、また、これらの異常視物質の分光吸収特性が示されたことにより、100 年以上にわたる論争に判決が下されようとしている。

また、色覚異常に関しては程度判定が特に職業適性などにおいて問題とされている。ここで、例えば第1色弱において、異常視物質の最大吸収波長が正常緑視物質の値と近似するほど、色識別能が良好ともいえる^{(69)~(70)}。程度には、網膜に発現する視物質の量や視覚伝達過程の関与も考えられるが、これらの諸問題が遺伝子解析により解決される可能性もあり、今後の研究に期待したい。

稿を終えるに当たり、宿題報告の機会を与えて下さいました日本眼科学会評議員各位、座長を務められた田澤 豊教授に心から感謝いたします。また、研究をすすめるに当たり、貴重な資料を提供いただいた J Nathans 教授 (Johns Hopkins University)、有益なご教示をいただきました J Pokorny 教授および VC Smith 教授 (University of Chicago)、AG Motulsky 教授、SS Deeb 教授 (University of Washington)、岡島修先生 (山梨病院)、長澤和弘先生 (東京大学) に衷心より感謝の意を表します。また、多大なご支援、ご援助をいただきました慈眼会の諸先生に厚く御礼申し上げます。最後に、共同研究者として献身的に協力いただいた教室員一同に深甚の謝辞を送ります。

本研究の一部は、厚生科学研究費補助金 H 10 特別 048、および文部省科学研究費基盤研究 (B) (2) 08457469 の援助を受けて行った。

文 献

- 1) Young T: On the theory of light and colours. Phil Trans R Soc Lon 92: 12—48, 1802.
- 2) Stiles WS: Color vision: The approach through increment threshold sensitivity. Proc Natl Acad Sci USA 45: 100—114, 1959.
- 3) Wald G: The receptors of human color vision. Science 145: 1007—1017, 1964.
- 4) Smith VC, Pokorny J: Spectral sensitivity of color-blind observers and the cone photopigments. Vision Res 12: 2059—2071, 1972.
- 5) Smith VC, Pokorny J: Spectral sensitivity of the foveal cone photopigments between 400 and 500 nm. Vision Res 15: 161—171, 1975.
- 6) Walraven PL: A closer look at the tritanopic convergence point. Vision Res 14: 1339—1343, 1974.
- 7) Vos JJ: Colorimetric and photometric properties of a 2° fundamental observer. Color Res & Appl 3: 125—128, 1978.
- 8) Estevez O: On the fundamental data-base of normal and dichromatic color vision. Ph D Thesis, University of Amsterdam, Krips Repro Meppel, Amsterdam, 1979.
- 9) Rushton WAH: A cone pigment in the protanope. J Physiol 168: 345—359, 1963.
- 10) Brown PK, Wald G: Visual pigments in human and monkey retinas. Nature 200: 37—43, 1963.
- 11) Rushton WAH: A foveal pigment in the deuteranope. J Physiol 176: 24—37, 1965.
- 12) Baker HD, Rushton WAH: The red-sensitive pigment in normal cones. J Physiol 176: 56—72, 1965.
- 13) Marks WB, Dobelle WH, MacNichol EF Jr: Visual pigments of single primate cones. Science 143: 1183—1191, 1964.
- 14) Brown PK, Wald G: Visual pigments in single rods and cones of the human retina. Science 144: 45—52, 1964.
- 15) Bowmaker JK, Dartnall HJA: Visual pigments of rods and cones in a human retina. J Physiol 298: 501—511, 1980.
- 16) Dartnall HJA, Bowmaker JK, Mollon JD: Human visual pigments: Microspectrophotometric results from the eyes of seven persons. Proc Roy Soc Lond [Biol] 220: 115—130, 1983.
- 17) Wald G: Molecular basis of visual excitation. Nature 219: 800—807, 1968.
- 18) Nathans J, Thomas D, Hogness DS: Molecular genetics of human color vision: The genes encoding blue, green, and red pigments. Science 232: 193—202, 1986.
- 19) Oprian DD, Asenjo AB, Lee N, Pelletier SL: Design, chemical synthesis, and expression of genes for the three human color vision pigments. Biochemistry 30: 11367—11372, 1991.
- 20) Merbs SL, Nathans J: Absorption spectra of hu-

- man cone pigments. *Nature* 356: 433—435, 1992.
- 21) **Nathans J, Piantanida TP, Eddy RL, Shows TB, Hogness DS**: Molecular genetics of inherited variation in human color vision. *Science* 232: 203—210, 1986.
 - 22) **Motulsky AG**: Normal and abnormal color-vision genes. *Am J Hum Genet* 42: 405—407, 1988.
 - 23) **Merbs SL, Nathans J**: Absorption spectra of the hybrid pigments responsible for anomalous color vision. *Science* 258: 464—467, 1992.
 - 24) **Asenjo AB, Rim J, Oprian DD**: Molecular determinants of human red/green color discrimination. *Neuron* 12: 1131—1138, 1994.
 - 25) **Nagel WA**: Zwei Apparate für die augenärztliche Funktionsprüfung. Adaptometer und kleines Spektralphotometer (Anomaloskop). *Ztschr Augenheilk* 17: 201—222, 1907.
 - 26) **太田安雄, 清水金郎**: 色覚と色覚異常, 第2版. 金原出版, 東京, 257—266, 1992.
 - 27) **Yamaguchi T, Motulsky AG, Deeb SS**: Visual pigment gene structure and expression in human retinae. *Hum Mol Genet* 6: 981—990, 1997.
 - 28) **Rayleigh JWS**: Experiments on colour. *Nature* 25: 64—66, 1881.
 - 29) **北原健二**: 等色, 等色式, レイリー等色. *眼科* 38: 182, 1996.
 - 30) **Kranda K, King-Smith PE**: Detection of coloured stimuli by independent linear systems. *Vision Res* 9: 733—745, 1979.
 - 31) **Sperling HG, Harwerth RS**: Red-green cone interactions in the increment-threshold spectral sensitivity of primates. *Science* 172: 180—184, 1971.
 - 32) **Thornton JE, Pugh EN**: Red/green color opponency at detection threshold. *Science* 219: 191—193, 1983.
 - 33) **Jørgensen AL, Deeb SS, Motulsky AG**: Molecular genetics of X chromosome-linked color vision among population of African and Japanese ancestry: High frequency of a shortened red pigment gene among Afro-Americans. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6512—6516, 1990.
 - 34) **Deeb SS, Jørgensen AL, Battisti L, Iwasaki L, Motulsky AG**: Sequence divergence of the red and green visual pigments in great apes and humans. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7262—7766, 1994.
 - 35) **Deeb SS**: Molecular patterns and sequence polymorphisms in the red and green visual pigment genes of Japanese men. *Hum Genet* 95: 501—506, 1995.
 - 36) **Smith VC, Pokorny J, Starr S**: Variability of color mixture data. I. Interobserver variability in the unit coordinates. *Vision Res* 16: 1087—1094, 1976.
 - 37) **Alpern M**: Lack of uniformity in color matching. *J Physiol* 288: 85—105, 1979.
 - 38) **Pokorny J, Smith VC, Verriest J, Pinckers AJLG**: Congenital and acquired color vision defects. Grune & Stratton, New York, 230—231, 1979.
 - 39) **Pickford RW**: A practical anomaloscope for testing colour vision and colour blindness. *Br J Physiol Opt* 14: 2—26, 1957.
 - 40) **Pickford RW**: A review of some problems of colour vision and colour blindness. *Adv Sci* 15: 104—117, 1958.
 - 41) **Pickford RW, Lakowski R**: The Pickford-Nicolson anomaloscope: For testing and measuring colour sensitivity and colour blindness, and other tests and experiments. *Br J Physiol Opt* 17: 131—150, 1960.
 - 42) **Heinsius E**: Über die verschiedenen Formen der Trichromasie, sowie über die Grenze zwischen Farbentüchtigkeit und Farbenuntüchtigkeit. *Klin Monatsbl Augenheilkd* 135: 95—107, 1959.
 - 43) **市川 宏**: アノマロスコープ. 市川 宏, 他(編): 眼科器械の使い方, 医学書院, 東京, 115—124, 1975.
 - 44) **Nelson JH**: Anomalous trichromatism and its relation to normal trichromatism. *Proc Phys Soc (London)* 50: 661—702, 1938.
 - 45) **Schmidt I**: Some problems related to testing color vision with the Nagel anomaloscope. *J Opt Soc Am* 45: 514—522, 1955.
 - 46) **Rushton WAH, Baker HD**: Red/green sensitivity in normal vision. *Vision Res* 4: 75—85, 1964.
 - 47) **Helve J**: A comparative study of several diagnostic tests of colour vision used for measuring types of degrees of congenital red-green defects. *Acta Ophthalmol Suppl* 115: 1—64, 1972.
 - 48) **Neitz J, Jacobs GH**: Polymorphism of the long-wavelength cone in normal human colour vision. *Nature* 323: 623—625, 1986.
 - 49) **Neitz J, Jacobs GH**: Polymorphism in normal human color vision and its mechanism. *Vision Res* 30: 621—636, 1990.
 - 50) **Lutze M, Cox NJ, Smith VC, Pokorny J**: Genetic studies of variation in Rayleigh and photometric matches in normal trichromats. *Vision Res* 30: 149—162, 1990.
 - 51) **Winderickx J, Lindsey DT, Sanocki E, Teller DY, Motulsky AG, Deeb SS**: Polymorphism in red photopigment underlies variation in colour matching. *Nature* 356: 431—435, 1992.
 - 52) **Piantanida TP, Gille J**: Methodology-specific Rayleigh-match distributions. *Vision Res* 32: 2375—2377, 1992.
 - 53) **Neitz J, Neitz M, Jacobs GH**: More than three different cone pigments among people with normal color vision. *Vision Res* 33: 117—122, 1993.
 - 54) **Pokorny J, Smith VC, Wesner MF**: Variability in cone populations and implications. In: Valberg A, et al (Eds): *Pigments to Perception*. Plenum Press,

- New York, 23—34, 1991.
- 55) **Neitz M, Neitz J, Grishok A** : Polymorphism in the number of genes encoding long-wavelength-sensitive cone pigments among males with normal color vision. *Vision Res* 35 : 2395—2407, 1995.
- 56) **Macke JP, Nathans J** : Individual variation in the size of the human red and green visual pigment gene array. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 38 : 1040—1043, 1997.
- 57) **Hurvich LM** : Color vision deficiencies. In : Jameson D, et al (Eds) : *Handbook of Sensory Physiology*, Vol. VII/4. Springer-Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 582—624, 1972.
- 58) **Alpern M, Wake T** : Cone pigment in human deutan colour vision defects. *J Physiol* 266 : 595—612, 1977.
- 59) **Mollon JD, Bowmaker JK, Dartnall HJA, Bird AC** : Microspectrophotometric and psychophysical results for the same deuteranopic observer. *Documenta Ophthalmologica Proceedings Series* 39, Dr W Junk Publishers, The Hague, 303—310, 1984.
- 60) **Alpern M** : The color vision of the color blind. *Jpn J Ophthalmol* 25 : 1—17, 1981.
- 61) **Alpern M, Pugh EN** : Variation in the action spectrum of erythrolabe among deuteranopes. *J Physiol* 266 : 613—646, 1977.
- 62) **Alpern M, Moeller J** : The red and green cone visual pigments of deuteranomalous trichromacy. *J Physiol* 266 : 647—675, 1977.
- 63) **Neitz M, Neitz J, Jacobs GH** : Spectral tuning of pigments underlying red-green color vision. *Science* 252 : 971—974, 1991.
- 64) **He JC, Shevell SK** : Variation in color matching and discrimination among deuteranomalous trichromats : Theoretical implications of small differences in photopigments. *Vision Res* 35 : 2579—2588, 1995.
- 65) **Sanocki E, Teller DY, Deeb SS** : Rayleigh match ranges of red/green color-deficient observers : Psychophysical and molecular studies. *Vision Res* 37 : 1897—1907, 1997.
- 66) **Drummond-Borg M, Deeb SS, Motulsky AG** : Molecular patterns of X chromosome-linked color vision genes among 134 men of European ancestry. *Proc Natl Acad Sci USA* 86 : 983—987, 1989.
- 67) **Deeb SS, Lindsey DT, Hibiya Y, Sanocki E, Winderickx J, Teller DY, et al** : Genotype-phenotype relationships in human red/green color-vision defects : Molecular and psychophysical studies. *Am J Hum Genet* 51 : 687—700, 1992.
- 68) **Winderickx J, Battisti L, Motulsky AG, Deeb SS** : Selective expression of human X chromosome-linked green opsin genes. *Proc Natl Acad Sci USA* 89 : 9710—9714, 1992.
- 69) **Regan BC, Reffin JP, Mollon JD** : Luminance noise and the rapid determination of discrimination ellipses in colour deficiency. *Vision Res* 34 : 1279—1299, 1994.
- 70) **Neitz J, Neitz M, Kainz PM** : Visual pigment gene structure and the severity of color vision defects. *Science* 274 : 801—804, 1996.