

青色発光ダイオード光による網膜障害

小出 良平¹⁾, 植田 孝子²⁾, William W Dawson³⁾, George M Hope³⁾, Ann Ellis⁴⁾
 Don Samuelson⁴⁾, 植田 俊彦¹⁾, 岩渕 成祐¹⁾, 福田 紹平¹⁾, 松石 美応¹⁾
 安原 一²⁾, 小澤 哲磨¹⁾, Donald Armstrong¹⁾⁴⁾

¹⁾昭和大学医学部眼科学教室, ²⁾昭和大学医学部第二薬理学教室

³⁾Department of Ophthalmology, College of Medicine, University of Florida

⁴⁾Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida

要 約

目的：サル網膜での青色(460 nm)発光ダイオード(LED)光の照射による網膜障害の程度について検討した。

対象と方法：成熟雄アカゲザルに、麻酔下青色LED光をスリットランプで照射した。角膜直前に設置したレンズを通し網膜上に直径3 mm (0.85 mW)の円形像を作った。経時的に12~90分照射による障害を測定した。眼底写真、蛍光眼底造影(FAG)、網膜トモグラフィおよび短波長網膜電図を照射前、2および30日後に測定した。

結果：40分照射2日後に照射部に一致した色素脱

出斑、FAGによる過蛍光、網膜厚の増加と網膜電図の変化が増加した。90分照射30日後、視細胞ディスクの崩壊、網膜色素上皮細胞からのメラニンの消失と尖端絨毛の障害があった。

結論：閾値は40分と推測される。形態学的障害は機能障害を招く可能性があり、継続的青色LED光照射は視覚障害をもたらす可能性のあることが推定された。(日眼会誌 105 : 687-695, 2001)

キーワード：青色光、発光ダイオード、網膜光障害

Retinal Hazard from Blue Light Emitting Diode

Ryouhei Koide¹⁾, Takako N Ueda²⁾, William W Dawson³⁾, Hope GM³⁾, Ann Ellis⁴⁾
 Don Somuelson⁴⁾, Toshihiko Ueda¹⁾, Shigehiro Iwabuchi¹⁾, Shohei Fukuda¹⁾
 Miou Matsuishi¹⁾, Hajime Yasuhara²⁾, Tetsuma Ozawa¹⁾, and Donald Armstrong¹⁾⁴⁾

¹⁾Department of Ophthalmology, School of Medicine, Showa University

²⁾Department of Pharmacology, School of Medicine, Showa University

³⁾Department of Ophthalmology, College of Medicine, University of Florida

⁴⁾Department of Small Animal Clinical Sciences, College of Veterinary Medicine, University of Florida

Abstract

Purpose : To compare the effect of exposure time from a blue(460 nm) light emitting diode(LED) on the morphology of the outer retina and determine conditions where damage occurs.

Materials and Methods : Young adult rhesus monkeys were anesthetized, and received blue LED exposure from a modified slit-lamp. A 3 mm beam of 0.85 mW was imaged onto the retina through a lens positioned before the cornea and exposure damage was determined at time intervals for 12 to 90 min. Fundus photography, fluorescein angiography(FA-G), retinal tomography(HRT), and s-cone electororetinogram(S-ERG) were recorded at baseline, 2, and 30 days.

Results : Two days after 40 min exposure, there was a grey, discolored region, which was over-

fluorescent in FAG, and an increase in HRT and S-ERG corresponding to the site which was exposed to LED light. In histological examination at 30 days, the LED had caused produced a marked disruption of the disks of photoreceptor cells, damaged retinal pigment epithelium(RPE) apical villi, and a loss of RPE melanin after 90 min exposure.

Conclusion : A threshold level was found around 40 min. This morphological damage may impair function and continuous exposure to blue light is potentially dangerous to vision. (J Jpn Ophthalmol Soc 105 : 687-695, 2001)

Key words : Blue light, Light emitter diode, Retinal light damage

別刷請求先：142-0054 東京都品川区西中延2-14-19 昭和大学医学部眼科学教室 小出 良平
 (平成12年10月4日受付, 平成13年4月9日改訂受理)

Reprint requests to: Ryohei Koide, M.D., Ph.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Showa University, 2-14-19 Nishinakanobu, Shinagawa-ku, Tokyo 142-0054, Japan.

(Received October 4, 2000 and accepted in revised form April 9, 2001)

I 緒 言

家庭電化製品のパイロットランプなどに利用されてきた発光ダイオード(light-emitting diode, LED)は、近年その開発が進み、性能向上とともに発光輝度が上がり、高輝度青色LEDが実用化され、ディスプレイや通信モジュールとしてその使用頻度は増加する傾向にある。電球などの一般光源に比べるとLEDの光源の大きさは小さく、25 nm程度の狭い波長範囲で発光する特性がある。屈折系を介した場合の集光度は不明であるが、半導体を使用していることからレーザー製品と同じ安全規格によりLEDの生産および開発は規制されている。世界電気技術委員会(International Electrotechnical Commission, IEC)では光学的または生物学的根拠を求め、LED製品の安全規格を再検討しているところではあるが、現在ではなお、1976年 American National Standards Institute Laser Safety Guidelinesで規定されたところのレーザー光を用いた実験結果から算出された maximal permissible exposures(MPE)に基づき、LED光の網膜照射強度と安全許容時間を決定している。

今回、我々はLED光の網膜に対する安全基準に言及すべく、ヒトと同様に黄斑部を持つサルを用いて、網膜傷害度について検討した。可視光の中でも特に網膜障害の起きやすい青色^{1)~4)}LED光を用い、サル網膜上において最大の青色LED光の照射範囲と照射強度を保つように、スリットランプを改造して照射装置を作製し、照射時間を延ばすことにより照射量を増加させた。照射2日および30日後に、臨床的眼底観察、生理学的には、青色光照射により不可逆的な障害を受けやすい青色錐体(blue-sensitive cones)を対象にした短波長錐体網膜電図(S-ERG)⁵⁾を測定した。また、手術用顕微鏡の強い光を長時間照射すると黄斑部に浮腫が生じ、この現象は色素上皮剥離の可能性を示す⁶⁾⁷⁾と報告されていることから、網膜トモグラフィ(HRT)の撮影、障害部位を確認するための蛍光眼底造影(FAG)も行った。さらに、これらの変化は形態学的網膜光障害を伴う⁸⁾という報告のあることから、照射30日後に生理学的観察終了後、眼球を摘出し網脈絡膜を固定し、光学および電子顕微鏡で形態学的観察を行い、網膜傷害度を判定した。

II 実験方法

1. 実験動物

成熟した雄アカゲザル(rhesus monkey, 4~8歳, 6匹6眼, 表1)を使用した。10 mg/kg ketamine hydrochloride, 0.25 mg/kg promethazine hydrochloride および0.02 mg/kg xylazineを投与し、網膜への光照射前の眼底観察、S-ERG, HRT測定を行った。サルを鎮静させた後、挿管し、人工呼吸装置を装着し、血中酸素分圧と血圧をモニターし、二酸化炭素分圧は4.5~5.0

%として、pancuronium bromide(0.03 mg/kg/hr)による全身麻酔を施行した。体温は保温シートおよびカバーを用いて維持し、網膜への青色LED光照射を行った。角膜の乾燥を避けるため生理食塩水点眼を適宜行い、角膜に混濁のないことを確認した。

2. 照射装置

光源には青色(中心波長460 nm, NSPB 520 S, 日亜化学工業株式会社製)LED(最大順電流65 mA, 1.2 mWの照射パワー)を用いた。強度はレーザー放射の直接目露光に対する角膜におけるMPE値(10 J/cm²)を目標とした。LED光照射装置には網膜上の照射強度をできるだけ確保するためにスリットランプ顕微鏡(TOPCON製)を用いた。また、スリットランプ顕微鏡は光学的構造上、絞りによりサル黄斑部に直径3 mmの円形像(スポット)照射となるようにした。図1に示すように、スリットランプ顕微鏡の光源部(ハロゲン電球とコンデンサーレンズ)に換えてLEDデバイスを設置できるように改良し、照明野絞り、中間結像点、サル眼底は互いに共役になっており、照明絞り内の光強度分布がサル眼底に実現されている。LED光は中間結像点に集光した後、眼底観察レンズにより常にサル角膜上で直径6 mmのスポットイメージを形成し、照射パワーは0.85 mW(順電流40 mA)となるように調整した。また、眼底観察レンズにはサル眼軸長(約17 mm)を考慮し、60 Dレンズを用いた。中心窩から乳頭径分離れた位置が青色LED光直径ほぼ3 mmのスポットイメージの中心となるように照射した。視神経乳頭径はスキヤニングレーザーで測定した。照射パワーはアドバンテストオプティカルパワーメータ(model TQ 8210)で測定した。光照射の間、サルは腹臥位とし、呼吸などの体動により眼球が動かないよう頭部を固定し(図2)、アトロピン点眼による十分な散瞳を確認した後、光照射を行った。光照射時間は12, 23, 34, 40, 45, 90分間とした。光照射中、ビデオ録画を行い、照射部位のずれがないことを確認した。光照射は片眼とし、反対眼は対照とした。

3. 眼底写真, 共焦点スキヤニングレーザー網膜トモグラフィ, FAG

光照射直前、照射2, 30日後に光照射眼と非照射眼を散瞳した後、眼底写真を眼底カメラ(Zeiss)で撮影した。また、光照射部位、中心窩、および視神経乳頭を含む20度の範囲でサル網膜を対象にHeidelberg Engineering Retinal Tomography Unit(HRT, Heidelberg Engineering)で共焦点スキヤニングレーザーHRT測定を行った⁹⁾。次に耳静脈からfluorescein(0.1 g/1 ml saline)を投与し、FAGによる眼底観察を行った。Fluorescein投与20秒後までは初期変化(early)として毎秒1枚ずつ、それに続く変化は5秒ごとに数分間の撮影を行い、2分後の変化を後期変化(late)とした。

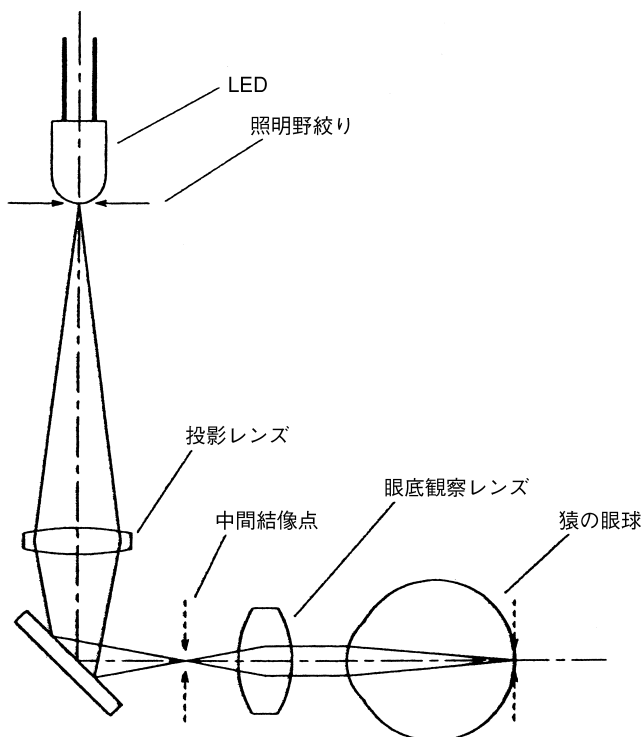


図 1 青色発光ダイオード(LED)照射光学系の配置。装置はスリットランプ(TOPCON 製)を使用し、眼底観察レンズには 60 D レンズを用いた。

4. 臨床的観察評価

眼底写真, HRT image および FAG の結果を各々 2 段階で評価した。障害のある場合には grade+, 何も変化がない場合には grade- として評価した。この 2 段階評価をすべての実験動物において適応し、閾値を求めた。

5. 短波長錐体網膜電図(short wavelength electroretinogram, S-ERG)

光照射直前, 照射 2, 30 日後に光照射眼と非照射眼の S-ERG¹⁰⁾¹¹⁾を測定した。コンタクトレンズ電極を経由して得られた 0.1~10 kHz の範囲のシグナルを増幅(Dynamic 890)し, デジタル変換後, コンピュータで平均加算(200 flashes/ERG/session)し, 記録した。刺激光および背景光は角膜直前 1 cm に先端を位置した直径 16 mm の光ファイバを経由して眼球に照射した。中, 長波長錐体の反応性を抑制するために, 相対的に強い黄色背景光と相対的に弱い青色刺激光を使用した。背景光は type ENH projection lamp と 485 nm 以下の短波長光と 495 nm で 50% カットする黄色フィルタ(Edmund Scientific #32763)を用い, 強度は 5.2 log millilamberts とした。刺激光は 435 nm に中心波長を持つフィルタ(半値幅 10 nm)を通った EG & G Xenon, short-arc flash(25 μsec flashes)を使用し, 強度は 3.5 microlamberts・sec とした。対照刺激には赤/橙色(510~570 nm, 25 μsec flashes, 13.8 millilambert・sec)光を用いた。青色刺激により S-ERG が誘導されることを確かめるた

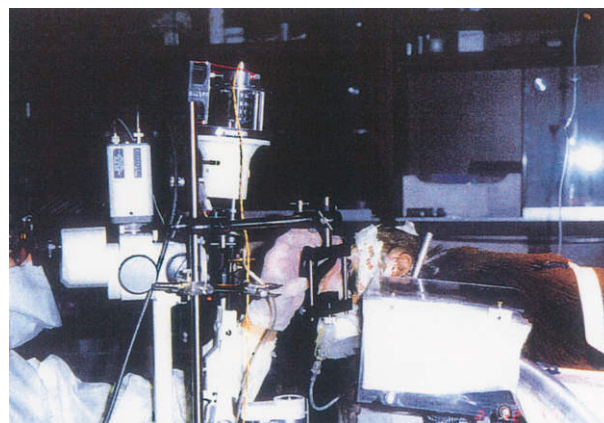


図 2

アカゲザルを全身麻酔下, うつぶせの状態に頭部を固定し, 青色 LED 光照射を行った。実験者が眼底観察レンズを用い, 照射光が直径 3 mm のスポットイメージの中央が中心窩から乳頭径分離していることを確認し, 光照射中はビデオ録画を行い, 照射部位のずれがないことを確認した。

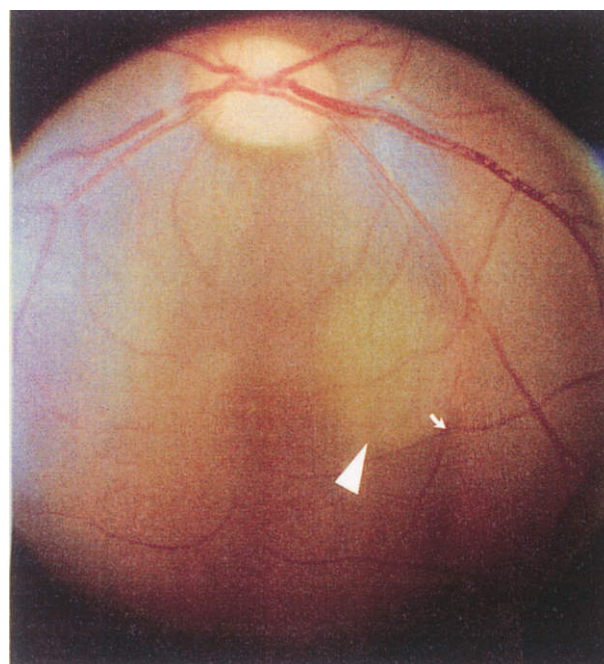


図 3 青色 LED 光 90 分照射後の眼底写真。

青白い色調の変化をみる障害部位(矢じり)は青色 LED 光照射部位と一致していた。小さい曲がり矢印は血管の分岐点を示し, 蛍光眼底造影(FAG)や網膜トモグラフィ(HRT)測定時に障害部位を確認するための目標とした。

めに, 閾値に近い青または赤色光刺激に対する反応性と青色 15~25 flashes/second フリッカ ERG を比較した。S-ERG では青色刺激 40 milliseconds 後に S-ERG の最大振幅が現れ, 赤色刺激では中, 長波長錐体に関与する振幅が早期(20 milliseconds)に出現し, 20~25 flashes/seconds で反応性は消失することを確認した。ERG は

最大刺激から 0.3 log unit 減衰レベルごとに振幅が $1\mu\text{V}$ 以下になるまで記録した。

6. 組織学的観察

光照射 30 日後の臨床的観察終了後にエタノールを用いて屠殺し、眼球を摘出した。前眼部を取り除き、4% paraformaldehyde, 0.5% glutaraldehyde を含む 0.1 M sodium cacodylate 溶液を用いて一晩浸潤固定を施行した。眼球の後極を 4 分割し、眼底写真に基づき、障害部位を黄斑部を含んで約 30 mm^2 部位を切り出した。組織を脱水後、Epon-Araldite を用いて包埋した。 $1\mu\text{m}$ ごとにスライスを作製し (Reichert Ultratome), 光学顕微鏡用には methylene blue, 電子顕微鏡用には uranyl acetate で染色した。

III 結 果

1. 眼底写真

青色 LED 光 90 分照射 (OX 18) 2 日後, 直径約 3 mm 青白い変色部位を確認した (図 3)。変色部 (矢じり) は視神経乳頭 ($1.9 \times 1.6\text{ mm}$ 径) の右側で黄斑部の上部に位置する。この部位は青色 LED 照射部位と一致しており, 青白い色調の変化を確認した。曲がり矢印は血管の分岐点を示し, HRT, FAG 測定時に障害部位を確認するための目標とした。青色 LED 90 分照射では 30 日後においても同様の変色部位を確認した。40 分照射 (SBR 38) では 2 日後に青色 LED 光照射部位に一致した変色部位を確認したが, 30 日後にはっきりとした痕跡はなかった。34 分以下の照射では変色部位はなかった。

2. FAG

FAG 施行により眼底写真で確認された変色部に一致

して過蛍光があった (図 4, 矢印)。曲がり矢印は図 3 と同じ血管の分岐点を示す。青色 LED 90 分照射 (OX 18) 2 日後に初期 (fluorescein 静注 10.4 秒後) および後期 (2 分後) 変化で過蛍光があり, 30 日後でも同様に過蛍光となった。この過蛍光は window defect と考えられた。同様の過蛍光は 45 分照射 (M 244) でも観察された。40 分照射 (SBR 38) では 30 日後に初期変化での過蛍光はなく, 後期で観察され, 34 分照射 (79 D) では 30 日後の初期変化で過蛍光を僅かに観察されたが, 23 分以下の照射ではいずれの変化もなかった。

3. 共焦点スキャニングレーザー-HRT

青色 LED 90 分照射 (OX 18) 2 日後 (左側), または 30 日後 (右側) の HRT image を図 5 に示した。内境界膜のスキャニング写真 (左上) には異常はないが, 内境界膜から $20\mu\text{m}$ の深さのスキャニング写真 (右上) では, 30 日後にそれぞれ図 3 の色調変化部位に一致した網膜厚の増加を示している。これをデジタル解析し左下に写真で示し, 右下には縦切 image をそれぞれ示した。縦切 image では, 90 分照射 2 日後に障害部位は浮腫となり, 30 日後には軽減していた。しかし, 内境界膜から $20\mu\text{m}$ の深さのスキャニング写真には障害部位が写っていることから, この障害はより深部で起こっていることが推測された。同様の変化は 40 分照射まで観察されたが, 34 分以下の照射で変化はなかった。

4. 臨床的観察評価

表 1 に臨床的観察評価 (眼底写真, FAG, HRT) をまとめた。光照射前に比べ照射 2, 30 日後に変化のなかったものは -, 変化のあったものは + で示した。図 6 にはこれらの結果を $- = 0$, $+ = 1$ としてグラフにまとめた。

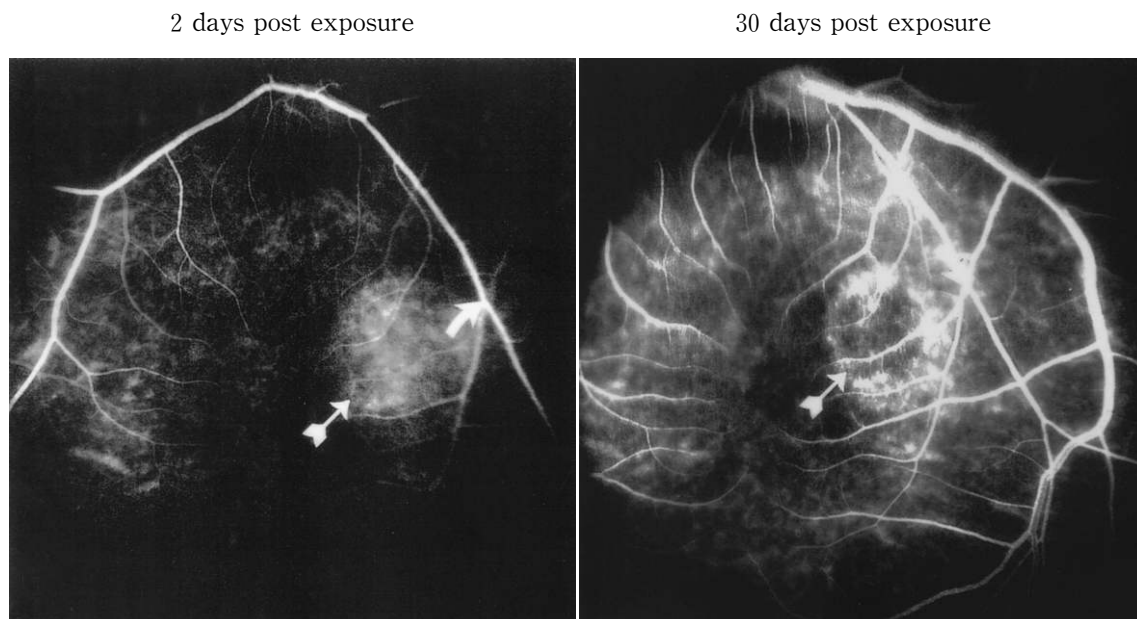


図 4 青色 LED 光 90 分照射後の FAG 写真。

障害部位は矢印で, 曲がり矢印は図 3 と同じ血管の分岐点を示した。左図は照射 2 日後, 右図は照射 30 日後の結果を示した。図 3 で確認された変色部に一致して過蛍光を示している。

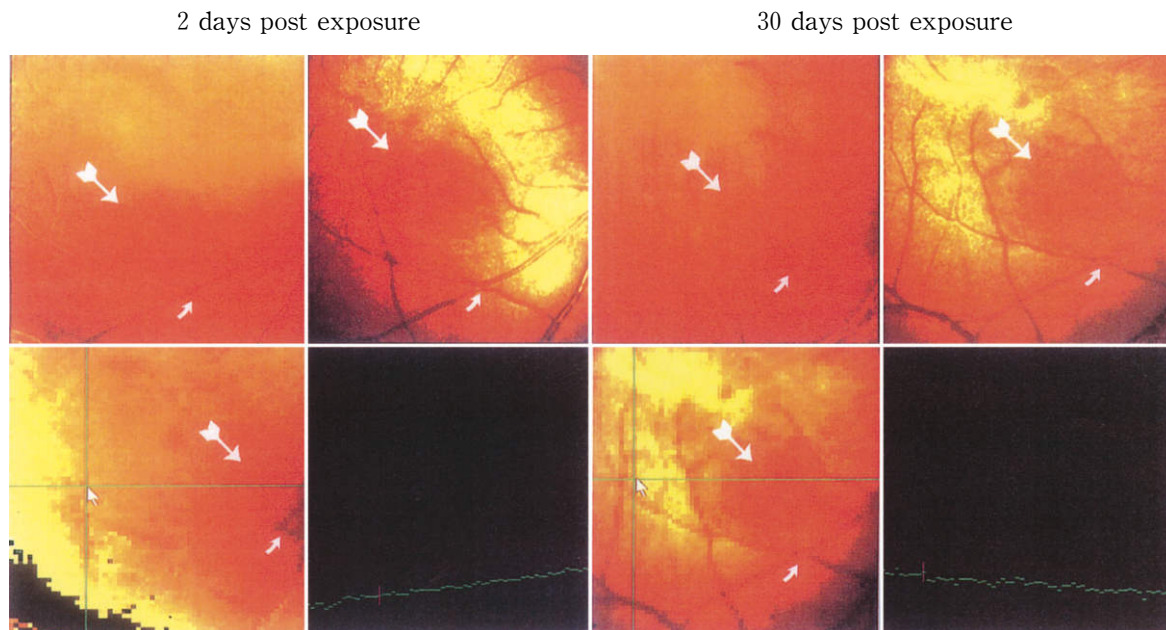


図 5 青色 LED 光 90 分照射後の HRT.

図 3 と同様に矢印は障害部位を，小さい曲がり矢印は図 3 と同じ血管の分岐点を示した．左側 4 枚は照射 2 日後，右側 4 枚は 30 日後の HRT image を示した．左上にはそれぞれ，内境界膜，右上は内境界膜から 20 μm のスキャニング写真を示した．黄色，橙色，赤色と順に網膜厚の増加を表す．左下には右上図のデジタル解析写真を，右下には縦切 image をそれぞれ示した．内境界膜から 20 μm の深さのスキャニング写真（右上）では 2，30 日後それぞれ図 3 の色調変化部位に一致した網膜厚の増加を示している．

2 本のカーブは 2 日 (○)，または 30 日 (●) 後の観察評価結果を示したものである．グラフから 50% 障害の現れる照射時間は，2 日後では 38 分，30 日後では 41 分となり，この時間から青色 LED 光の照射量を算出した．

5. S-ERG

SBR 39 の非照射眼から得られた S-ERG を示した (図 7)．図 8 には S-ERG の結果を非照射眼に対する百分率で示した．青色 LED 光 (0.85 mW) 34 分以上と 34 分未満では異なる結果となった．34 分 (79 D) 以上の照射，4 個体では 2 日後の振幅は，いずれも照射前の値より高い値を示したが，30 日後には低値となり，45 分 (M 244)，90 分 (OX 18) 照射では照射前の値より低い値を示した．それに対して 34 分未満の 2 個体，Z 50 (12 分) と D 59 (23 分) においては照射前，2，30 日後の結果は 34 分以上の照射グループとは異なり，2 日後には僅かに低下したが，30 日後には照射前値と同様の値を示した．

6. 組織学的観察

青色 LED 光 (0.85 mW) 90 分照射 (OX 18) 30 日後の網膜顕微鏡写真 (400 倍) をみると視細胞内節，外顆粒層，内顆粒層に異常はなく，障害は網膜色素上皮 (RPE) 細胞と視細胞外節で起きていることが明らかとなり，視細胞外節と RPE 細胞に間隙が生じ，浸潤細胞が残留していた (図 9)．脈絡膜血管に血栓形成がみられた．40 分照射眼 (図 10 A) の障害部位を電子顕微鏡 (7,500 倍) で非照射眼 (図 10 B) と比較すると視細胞外節は崩壊し，

RPE 細胞ではメラニン顆粒が小型化し，減少している．さらに，ミトコンドリアの減少，先端絨毛の消失，食細胞と遺残小体が増加していた．細胞内小器官は崩壊して細胞はほぼ壊死に陥っていた．脈絡膜毛細血管には赤血球の凝集がみられた．

IV 考 按

半導体技術を礎とする LED 技術の進歩はめざましく，使用頻度も多くなり，使用法も多岐に渡っている．コンピュータ通信，ビデオカメラ送信などの電気製品に組み込まれ，ごく身近で頻回に使用される可能性が高まっている．通常の照明器具と違い LED 光は半導体の pn 結合を利用した発散光であり，その半導体素子の大きさは 0.3×0.3 mm 程度で，プラスチックレンズを具備し，光源の大きさは小さく，25 nm 程度の波長範囲で発光する特性を持つなど，レーザーダイオードと似ている面もあり，網膜障害の可能性が懸念され出した．このため，国際および日本でのレーザー安全基準に LED も含まれることになった．

光の網膜上の集光度は光の位相，波長が時間的空間的にどれだけ揃っているか，すなわち，コヒーレンス度によって角膜上でのパワーが同じでも網膜上のエネルギー密度は大きく変化する．LED にはどの程度のコヒーレンス度があるのかは不明瞭であるが，模擬眼により実測すると LED の集光度はレーザー光よりもかなり悪い．

表 1 臨床的観察評価

動物名	プロトコル	眼底写真	蛍光眼底造影(FAG)	共焦点スキャニングレーザー網膜トモグラフィ(HRT)
Z 50	12 min 照射後			
	Day 2	-	E- L-	-
	Day 30	-	E- L-	-
D 59	23 min 照射後			
	Day 2	-	E- L-	-
	Day 30	-	E- L-	-
79 D	34 min 照射後			
	Day 2	-	E- L-	-
	Day 30	-	E+ L-	-
SBR 38	40 min 照射後			
	Day 2	+	E+ L+	+
	Day 30	-	E- L+	+
M 244	45 min 照射後			
	Day 2	+	E+ L+	+
	Day 30	+	E+ L+	+
OX 18	90 min 照射後			
	Day 2	+	E+ L+	+
	Day 30	+	E+ L+	+

- : negative, + : positive, E : early, L : late

網膜に最も影響を与えやすい青色 LED 光をサル網膜に照射したが、23 分以下の照射では生理学的にも形態学的にも網膜になんら変化はなかった。40 分間(SBR 38)照射 2 日後に眼底観察による照射部位に一致した青白いスポットと蛍光造影剤の過蛍光と、S-ERG の増加が観察されたが、30 日後には青白いスポットも S-ERG の変化も観察されず、形態学的変化はなかった。この結果は、倒像鏡と 20 D レンズを組み合わせるサルの網膜障害を形態学的に検討した Tso⁶⁾の報告と類似している。Tso によると、角膜から 20~25 cm の位置にセットした倒像鏡で 1 時間照射すると直後から網膜の浮腫と RPE の変形が起り、2 週間後には RPE 色素の逸脱、続いて視細胞外節に障害が起きるが 1 か月後には RPE は修復し、視細胞外節は再生したとしている。青色 LED 光 90 分(OX 18)照射では照射 2 日後から、網膜照射部位は青白いスポットとして観察され、HRT, S-ERG の増加が観察され、30 日後まで継続した。形態学的には視細胞外節は崩壊し、RPE ではメラニン顆粒の小型

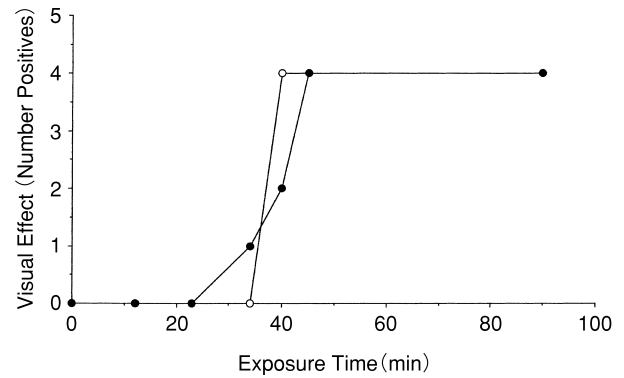


図 6 臨床的観察評価。

表 1 に示した眼底写真, FAG, HRT の結果を縦軸に - = 0, + = 1 として, 横軸に照射時間を示し, グラフに表した。○ : 青色 LED 光照射 2 日後, ● : 30 日後の結果を示した。グラフから 50% 障害の現れる照射時間は 2 日後では 38 分, 30 日後では 41 分となる。

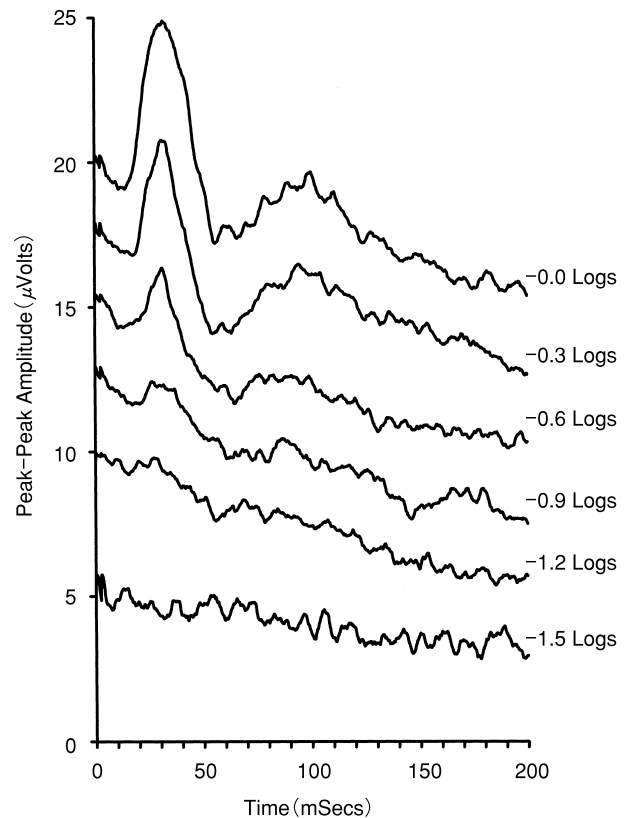


図 7 非照射眼(SBR 39)から得られた短波長錐体網膜電図(S-ERG)。

波形は最も強い刺激強度から 0.3 log unit ずつ漸次減少させ、振幅が $1 \mu V$ 以下になるまで記録した。

化と逸脱, ミトコンドリアの減少と遺残小体の増加が観察された(図 9)。FAG の結果もこの形態学的変化と一致しており, 90 分照射(OX 18)30 日後に RPE 細胞に障害が起きていることを表す fluorescein の過蛍光が観察された。45 分(M 244)照射で照射部位に一致した灰色スポットは 30 日後まで確認され, FAG の過蛍光と HRT, S-ERG は高い値を示した。以上の結果から, 各照射時

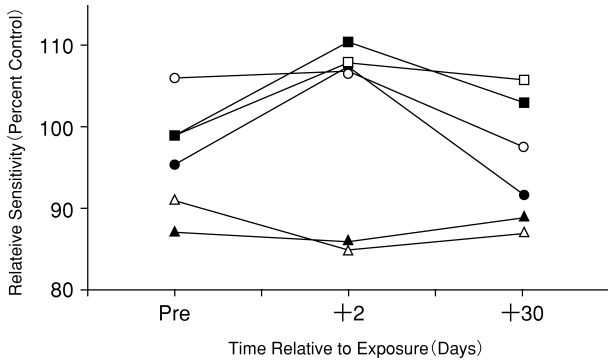


図 8

青色 LED 光照射後の S-ERG の振幅結果を非照射眼の振幅結果に対する百分率で示した。横軸は照射前，照射 2 日後，30 日後を示す。それぞれの照射時間は，○：90 分，●：45 分，□：40 分，■：34 分，△：23 分，▲：12 分。

34, 40, 45, 90 分の 4 個体では 2 日後の振幅は，いずれも照射前の値より高い値を示したが，30 日後には低値となり，45, 90 分照射では照射前の値より低い値を示した。12 分と 23 分では照射前，2, 30 日後の結果は 34 分以上の照射グループとは異なり，2 日後には僅かに低下したが，30 日後には照射前値と同様の値を示した。

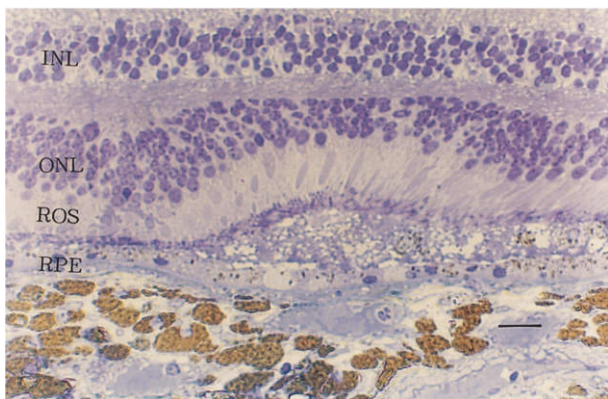


図 9 青色 LED 光 90 分照射 30 日後の網膜顕微鏡写真 (400 倍)。

視細胞内節，外顆粒層，内顆粒層に異常はなく，障害は網膜色素上皮 (RPE) 細胞と視細胞外節で起きている。視細胞外節と RPE 細胞に間隙が生じ，浸潤細胞が残留している。脈絡膜血管に血栓形成がみられる。RPE：色素上皮細胞，ROS：視細胞外節，ONL：外顆粒層，INL：内顆粒層。バーは 20 μm

間ごと 1 眼の結果ではあるが，この青色 LED 光のサル網膜光傷害に対する閾値は，青色 LED 光では照射強度を 0.85 mW とした場合，40 分であることが推定された。また，2 日または 30 日後の観察評価結果を図 6 に表すと，2 日後の結果の方が僅かに障害に対する感受性が高い。最高値の 50% レベルを基準とするならば，障害の閾値は 38~41 分照射となる。この結果は，キセノンアークランプと 441 nm フィルタを用いた実験から，Ham ら²⁾により求められたサル網膜に対する閾値 (33 J/cm²)，白

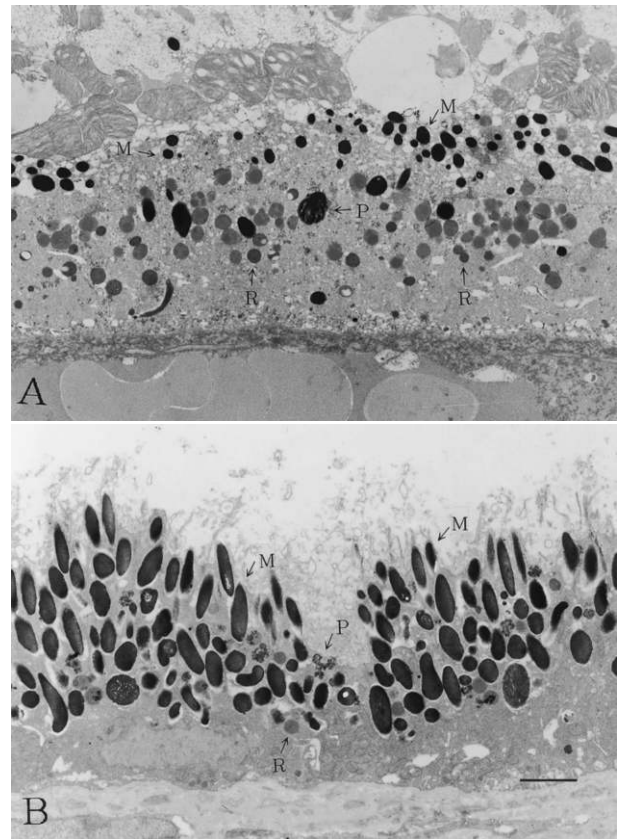


図 10 青色 LED 光 90 分照射 30 日後 (A) および非照射眼 (B) の網膜色素上皮細胞層の電子顕微鏡写真 (7,500 倍)。

A：視細胞外節は崩壊し，RPE 細胞ではメラニン顆粒が小型化し，減少している。ミトコンドリアの減少，尖端絨毛の消失，貪食胞と遺残小体が増加している。脈絡膜毛細血管には赤血球の凝集がみられる。M：メラニン (melanin) 顆粒，P：貪食胞 (phagosome)，R：遺残小体 (residual body)。バーは 2 μm

色光と 457.9 nm フィルタを組み合わせるサルを対象に行った Lawwill ら³⁾の実験結果と類似している。Lawwill らはレンズを用いてレーザー光を直径 2.5 mm のスポットで網膜へ照射した。照射強度を強くすることにより照射量を増加させ，RPE メラニン顆粒の遊走や凝集，錐体細胞の変形，ミトコンドリアの膨潤を伴う形態学的な変化から，網膜傷害閾値を 2 mW/cm²，4 時間照射 (28.8 J/cm²) としており，今回用いた青色 LED 光 40 分照射による形態学的変化と一致している。本実験条件から，角膜，レンズおよび硝子体に混濁がなく，直径 6 mm の瞳孔をすべての LED 光が通過し，途中吸収されることなく網膜に到達し，直径 3 mm のスポットイメージを形成したとすれば，その照射パワーは最大 12 mW/cm² となると推測され，40 分照射では 28.8 J/cm² となり，網膜上での照射量は Lawwill らの実験結果と同等となった。これら 3 つの実験では照射パワー，照射時間は異なっており，角膜上の照射パワーから網膜上での照

射量を計算により求めているが、青色LED光照射の閾値はインコヒーレントに近い値である可能性が推定された。しかし、レンズ系を介した場合の集光度が明らかでないLED光とコヒーレント光であるレーザー光の網膜傷害を比較するためには、同じ照射装置に同じ波長のレーザーまたはLEDを装着し、同様の実験条件下によるより詳細な比較検討が必要であると考えられる。

太陽光に含まれる青色光の危険性を1976年、Hamら¹⁾が示し、これに続き、可視光では長波長よりも短波長(青色)光による危険性が重視されてきた^{1)~4)}。つまり、一定のレベルに達した光子エネルギーを細胞が吸収すると、原子もしくは分子は励起状態になる。この高エネルギー分子から環境下の酸素に電子が放出され、エネルギーが移行するとスーパーオキシド、次いで、ヒドロキシラジカルや過酸化水素などの活性酸素種が発生する。これにより細胞膜の脂質や蛋白、核酸、ミトコンドリア膜などが攻撃され、細胞死を惹き起こすとされている。これら一連のラジカル反応を通じてRPE細胞を攻撃し、これに続き視細胞外節に障害が起こり⁷⁾、網膜に障害が発生するものと考えられている。RPE培養細胞を用いた実験から、50 J/cm²程度の青色LED光は細胞内、特にミトコンドリアにおいて活性酸素種、脂質過酸化物を生成し、細胞障害に至ることが示されている¹²⁾。これら光障害による細胞死とアポトーシスの関与についても示されおり⁴⁾、黄斑部で非可逆的な損傷を起こす可能性が推測される。

網膜の光障害については多くの報告^{13)~17)}があり、生理的な環境中の光による光障害の慢性的な蓄積が加齢黄斑変性やRPEなどの発症に関与する可能性も報告¹⁴⁾¹⁸⁾¹⁹⁾されている。また、閾値以下の繰り返し照射による網膜障害の累積¹⁷⁾についても報告されていることから、光照射時間の延長や蓄積はヒト網膜へ不可逆的な障害をもたらす、視力低下に至るかも知れない。さらに、光源が小さければ小さいほど、網膜上でのイメージサイズも小さくなること、つまり、照射密度が増加する可能性のあることを考え合わせると、厳しい安全基準が必要であると考えられる。しかし、通常使用されているLEDでは今回の実験条件レベルの照射パワーを出すことが難しいことも事実である。晴天の日中、太陽光を今回実験で使用したパワーメータを用いて470 nmで測定すると40 mW/cm²となる。今回、サル網膜に障害を起こすために近年開発、実用化された高輝度の青色LEDを用いたが、その照射パワーを生かすために試行錯誤の結果、実験装置にスリットランプを用いて0.85 mW/cm²の照射パワーを出すことができた。

今回使用したLEDでは網膜への集光度は一般光に似たものであったが、条件によっては網膜を障害する危険性を持っていることがわかった。レーザー安全基準にもこの結果を反映させる必要があるが、また今後はレー

ザーとLEDとの中間的な発光機構を持つ半導体素子も出現の可能性があり、発光波長の種類の増加も考えられるので、網膜上の集光度を個々のLEDで簡単に測定ができるような手段の開発、またコヒーレンス度をレーザー安全基準に含ませるように設定することが必要と考えられた。

文 献

- 1) Ham WT, Mueller HA : Retinal sensitivity to damage from short wavelength light. *Nature* 260 : 153-155, 1976.
- 2) Ham WT, Ruffolo JJ Jr, Mueller HA, Clarke AM, Moon ME : Histologic analysis of photochemical lesions produced in rhesus retina by short-wave-length light. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 17 : 1029-1035, 1978.
- 3) Lawwill T, Crockett S, Currier G : Retinal damage secondary to chronic light exposure, thresholds and mechanisms. *Doc Ophthalmol* 44 : 379-402, 1977.
- 4) Lawwill T : Three major pathologic processes caused by light in the primate retina : A search for mechanisms. *Trans Am Ophthalmol Soc* 80 : 517-579, 1982.
- 5) Sperlig HG : Spectral sensitivity, intense spectral light studies and the color receptor mosaic of primates. *Vision Res* 26 : 1557-1571, 1986.
- 6) Tso MOM : Photic maculopathy in rhesus monkey, a light and electron microscopic study. *Invest Ophthalmol* 12 : 17-34, 1973.
- 7) Parver LM, Auker CR, Fine BS : Observations on monkey eyes exposed to light from and operating microscope. *Ophthalmology* 90 : 964-972, 1983.
- 8) Orgonisciak DT, Wang H-m, Li Z-Y, Tso MOM : The protective effect of ascorbate in retinal light damage of rats. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 26 : 1580-1588, 1985.
- 9) Asrani S, Zeimer R, Goldberg MF, Zou S : Application of rapid scanning retinal thickness analysis in retinal diseases. *Ophthalmology* 104 : 1145-1151, 1997.
- 10) Gouras P, MacKay CJ, Yamamoto S : The human S-cone electroretinogram and its variation among subjects with and without L and M-cone function. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 34 : 2437-2442, 1993.
- 11) Simonsen SE, Rosenberg T : Reappraisal of short-wavelength-sensitive (S-cone) recording technique in routine clinical electroretinography. *Doc Ophthalmol* 91 : 323-332, 1996.
- 12) Ueda TN, Fukuda S, Ueda T, Ozawa T, Koide R, Majima H : Effect of light-emitting diode light exposure on retinal pigment epithelial cells, *in vitro*. 1999 International Laser Safety Conference

- Proceeding 4 : 57—62, 1999.
- 13) **Lawwill T, Crockett RS, Currier G** : Review of the macaque model of light damage with implications for the use of ophthalmic instrumentation. *Vision Res* 20 : 1113—1115, 1980.
 - 14) **Young RW** : Solar radiation and age-related macular degeneration. *Surv Ophthalmol* 32 : 252—269, 1988.
 - 15) **Organisciak DT, Winkler BS** : Retinal light damage : Practical and theoretical consideration. *Prog Retin Eye Res* 13 : 1—29, 1994.
 - 16) **Solley WA, Sternberg P Jr** : Retinal phototoxicity. *Int Ophthalmol Clin* 39 : 1—12, 1999.
 - 17) **Mainster MA, Ham WT, Delori FC** : Potential retinal hazards. *Ophthalmology* 90 : 927—932, 1983.
 - 18) **Taylor HR, West S, Munoz B, Rosenthal FS, Bressler SB, Bressler NM** : The long-term effects of visible light on the eye. *Arch Ophthalmol* 110 : 99—104, 1992.
 - 19) **Roh S, Weiter JJ** : Light damage to the eye. *J Fla Med Assoc* 81 : 248—251, 1994.
-