

Photopic electroretinogram の消失現象を起こす光刺激について

—第 1 報. 装置と slope 光刺激—

宇野 直樹¹⁾, 田原 恭治²⁾, 中尾 雄三¹⁾, 大鳥 利文¹⁾¹⁾近畿大学医学部眼科学教室, ²⁾たはら眼科

要 約

目 的：網膜電図(ERG)用の新しい光刺激装置を試作した。この光刺激装置は、刺激光の発光開始から最大輝度に至るまでの時間(以下, up-slope 時間)および最大発光時から消灯に至るまでの時間(以下, down-slope 時間)と各々の波形を任意に設定することができる。この光刺激を以下 slope 光刺激とする。本装置を使用して, slope 光刺激による photopic ERG を人眼で記録した。

対象および方法：対象は, 正常被検者 7 例 7 眼と 43 歳の増殖前糖尿病網膜症 1 例 1 眼とした。対象者すべてについて, up-slope 時間および down-slope 時間を順次延長して photopic ERG を記録した。

結 果：Slope 時間の延長に伴い, 点灯(ON)応答, 消灯(OFF)応答各々の振幅低下および頂点潜時の延長が

みられた。Up-slope 時間を 341 msec にすると ON 応答が, down-slope 時間を 34.1 msec にすると OFF 応答が消失した。糖尿病網膜症症例では, up-slope 時間を延長することによる ERG の振幅低下は正常者の平均値の推移とほぼ平行したが, 頂点潜時は up-slope 時間の延長とともに正常者平均との差が顕著となった。

結 論：これらの結果から, 適切な slope 時間を設定して ERG を記録すれば網膜の機能異常を検出できる可能性があり, 臨床的に応用できるものであることが推測された。(日眼会誌 103:311—317, 1999)

キーワード：Photopic ERG, Slope 時間, Slope 光刺激, 矩形波光刺激, 発光ダイオード内蔵型電極

Photostimulation that Induces Flattening of Photopic Electroretinograms

—First Report. An Apparatus for Slope Photostimulation—

Naoki Uno¹⁾, Kyoji Tahara²⁾, Yuzo Nakao¹⁾ and Toshifumi Otori¹⁾¹⁾Department of Ophthalmology, Kinki University School of Medicine, ²⁾Tahara Eye Clinic

Abstract

Purpose : We developed a new photostimulation system for electroretinograms (ERGs). This apparatus is capable of varying the transients during stimulus on and off (up-slope and down-slope times, respectively) as well as the stimulus and background intensities. We applied this system to evaluate the photopic ERG in human eyes.

Cases and methods : Seven normal volunteers and a 43-year-old patient with pre-proliferative diabetic retinopathy served as test subjects. We recorded ERGs with relatively long intervals of up-slope and down-slope times for photostimulation.

Results : As the up-slope and down-slope times were increased, the amplitude was reduced and the peak latency was prolonged for both the on and off responses. When the normal subjects' retinas were stimulated with a 341-msec up-slope time and a 34.1-msec down-slope time, the ERG waves showed com-

plete flattening in both on and off responses. The ERGs of a patient with pre-proliferative diabetic retinopathy showed much longer peak latency than that of the normal volunteers as the up-slope time was prolonged. When the patient's retina was stimulated for a prolonged up-slope time, the average of the amplitude of ERG waves was similar to that of the normal volunteers.

Conclusion : These results suggest that this new type of photostimulation might potentially uncover some novel aspect of clinical ERGs and might be useful for testing retinal functions of patients with diabetic retinopathy. (J Jpn Ophthalmol Soc 103: 311—317, 1999)

Key words : Photopic ERG, Slope time, Slope photostimulation, Rectangular photostimulation, LED electrode

別刷請求先：589-8511 大阪狭山市大野東 377-2 近畿大学医学部眼科学教室 宇野 直樹

(平成 10 年 5 月 22 日受付, 平成 10 年 11 月 11 日改訂受理)

Reprint requests to: Naoki Uno, M.D. Department of Ophthalmology, Kinki University School of Medicine, 377-2 Ohno-Higashi, Osaka-Sayama 589-8511, Japan

(Received May 22, 1998 and accepted in revised form November 11, 1998)

I 緒 言

通常、網膜電図(以下、ERG)の記録に用いられる光源は、主にキセノンフラッシュ光による閃光や持続光を断続して得られる矩形波光である。これらは光の点灯および消灯に要する時間を可能な限り短くしようとしたもので、刺激光として用いれば大振幅の ERG が高い再現性をもって記録できることは周知のごとくである。しかし閃光や持続光の断続では、最高輝度を変え得るが光の単位時間当たりの比増加量は常に一定である。そのため従来の刺激方法では、刺激光の消灯時から最高強度に至るまでの時間および最大発光時から消灯に至るまでの時間を変化させた場合に、ERG にどのような効果を及ぼすかを検討することが困難であった。一方、発光ダイオード(以下、LED)を用いた刺激光源一体型 ERG 電極(以下、LED 電極)¹⁾では、矩形波のみならずその LED 電極の最高発光強度内であれば、LED に流す電流を変化させることにより任意の発光波形や持続時間を設定することができる。田原ら²⁾は LED 電極の駆動電流を制御するために read-only memory (ROM) 発振器を応用し、非常に安定した ERG が記録できることを報告した。

今回、我々は光刺激の最大輝度を一定に保ったまま、刺激光の点灯(ON)および消灯(OFF)における光強度の時間経過を高い精度で変化させることができる装置を新たに試作した。この装置を用いて photopic ERG の記録を試みたところ、順応および光刺激強度は通常の photopic ERG が得られる条件と同じであるにもかかわらず、ERG が全く検出できなくなる現象が得られた。我々の教室における photopic ERG の記録条件は、白色光源で背景光 $20 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ 、刺激光 $1,900 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ とし、背景光輝度で 10 分間の明順応を行ってから記録している。背景光および最大刺激光輝度を photopic ERG と同じに設定し、刺激光の単位時間当たりの増減量を段階的に変化させて

ERG が消失に至るまでの刺激パターンとその過程を検討したので報告する。

II 方 法

1. 装 置

ERG 電極には、田原ら¹⁾の電極を双極型に改造した白色 LED 電極³⁾(以下、双極型 LED 電極・図 1)を使用した。本電極に内蔵した白色 LED は日亜化学工業製の

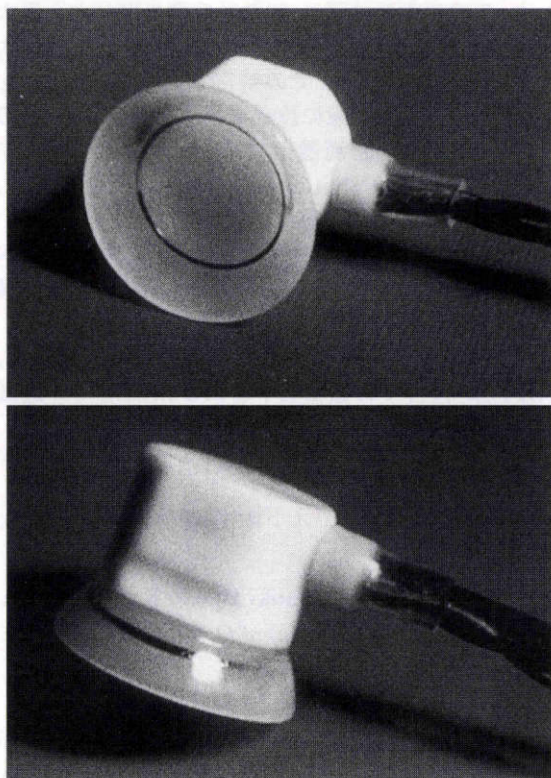


図 1 双極型白色発光ダイオード(LED)電極。

角膜に接する部分に閏電極を、電極のつばの瞼結膜に接する部分に不閏電極を設けている。用いた LED は日亜化学工業製の NSPW 310 AS で、単独で白色光を発する。

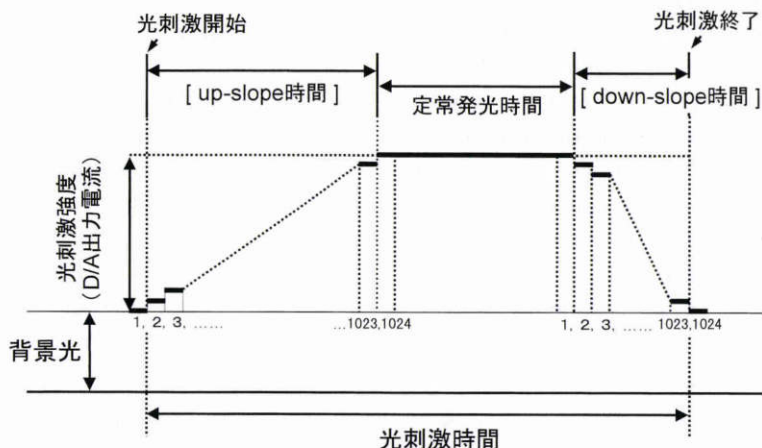


図 2 刺激光の波形変化の模式図。

Slope を形成するステップ数は 1,024 で、read-only memory (ROM) からデータを読み出すためのクロック周波数を変化させて slope 時間を設定する。

表 1 設定した up-slope 時間

	Slope 時間 (msec)
1	0(短形波)
2	3.41
3	6.8
4	10.2
5	13.6
6	17.0
7	20.4
8	34.1
9	40.9
10	68.1
11	102
12	136
13	170
14	204
15	341
16	409
17	681
18	1,020

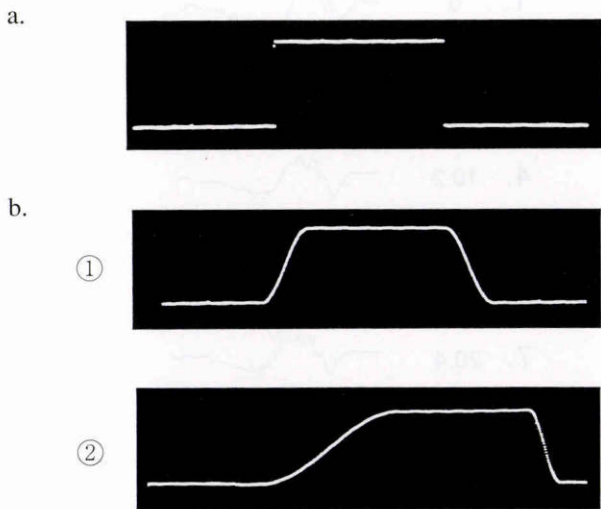


図 3 刺激光の模式図.

a : 矩形波光刺激, b : slope 光刺激

① : up-slope および down-slope 時間を 10.2 msec に設定した場合, ② : up-slope 時間を 40.9 msec に, down-slope 時間を 6.8 msec に設定した場合の光刺激波形を示した.

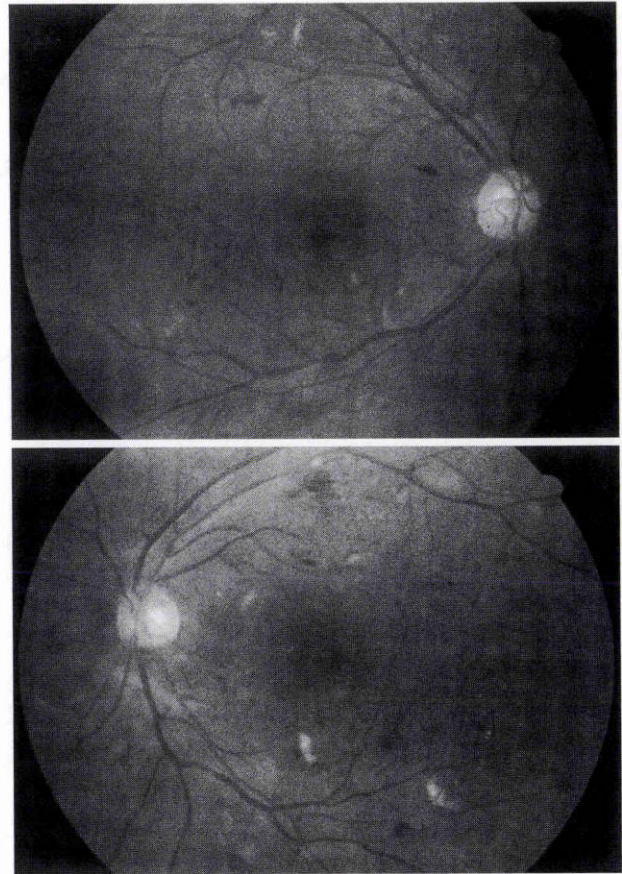


図 4 糖尿病網膜症症例の眼底写真.

ることが可能で, その間刺激光の輝度は階段状に上昇する. Up-slope 時間で直線的に電流を 40 mA 変化させるとすれば, 階段状の各ステップの高さは約 0.04 mA の変化ということになる. 刺激光が up-slope 時間を経て設定した最大輝度に達し, その輝度で点灯している時間を以下, 定常発光時間とする. 定常発光時間も任意に設定可能である. 電流が減少する場合も同様で, 定常発光終了から光刺激終了までの時間を以下, down-slope 時間とする. 本装置で得られる光刺激(以下, slope 光刺激)の slope 状に輝度変化する部分は, 直線増加(および直線減少)やサインカーブで変化する光刺激を選択できる. これは内蔵した ROM に書き込んだ波形成分を読み出すことによつて行われる. 今回はサイン変調とした. また, slope 光刺激とは別に矩形波光刺激も設定できるようになっている. LED 駆動装置にはあらかじめ slope 時間を設定してあり, 段階的に slope 時間を変更できる(表 1). 図 3 に光刺激波形の例を模式的に示す.

2. 対象および方法

対象は, 屈折異常以外の眼疾患のない正常被検者 7 例 7 眼, 糖尿病網膜症 1 例 1 眼とした. 正常被検者の年齢は 24~38 歳で, 平均 29.3 歳, 屈折度は -3.0~+2.0 D であった. 糖尿病網膜症の症例は 43 歳男性で, 矯正視力は両眼とも (1.0) で, 眼底検査では点状出血と軟性白斑があり, 蛍光眼底造影検査ではアーケード周囲に血管床閉塞

NSPW 310 AS であった. LED 駆動装置は自作したものであり, 背景光強度, 刺激光強度に加え, 前述のごとく刺激光の ON および OFF における時間経過を可変できる(図 2). まず, 背景光は LED へ直流電流を流すことによつて得られ, 刺激光とは異なる輝度で常に点灯した状態に保つことができる. 刺激光は 10 bit の D/A コンバーターの出力を増幅して得られた電流によつて LED を発光させて得られる. この D/A コンバーターの電流分解能は 1/1,024 なので, 光刺激開始から刺激の最大輝度に至るまでの光強度(以下, up-slope)を 1/1,024 に分割す

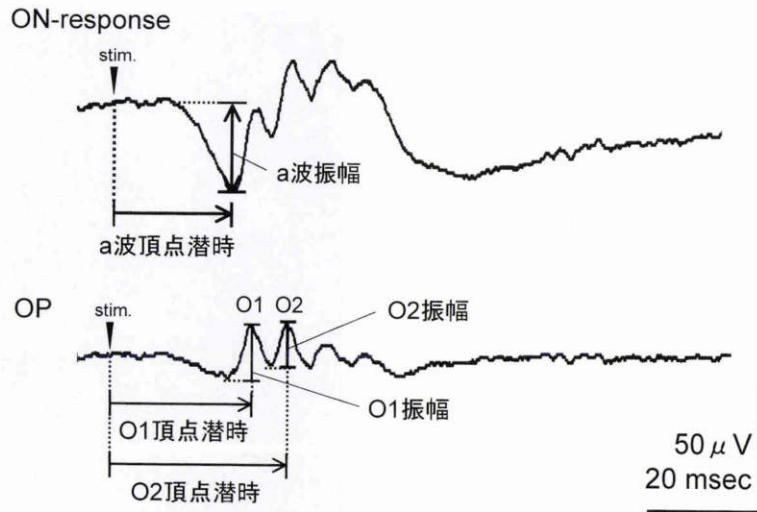


図5 Photopic 網膜電図(ERG)の a 波と律動様小波の測定方法.

stim. は光刺激開始を示す. 呈示した ERG は矩形波光刺激によるもの. 下図は上図から分離記録した律動様小波.

部があった. 以上から, 増殖前網膜症と診断した. ERG 記録時には網膜光凝固術は未施行であった. 本症例の眼底写真を示す(図4).

被検眼はすべてミドリン[®]P で瞳孔径を 7 mm 以上に散瞳した後, 0.4% オキシプロカイン点眼剤(ペノキシル[®])で表面麻酔を行い, 角膜保護の目的でヒドロキシエチルセルロース(スコピゾル[®])を数滴点眼して双極型 LED 電極を装着した. 接地電極として脳波記録用皿電極(日本光電社製)を検眼側の耳朶に接着した.

双極型 LED 電極の最大刺激光輝度は $1,900 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ とした. また, photopic ERG 記録時の定常発光時間は 100 msec に設定した. 背景光輝度は $20 \text{ cd} \cdot \text{m}^{-2}$ に設定した. これらは International Society for Clinical Electrophysiology of Vision (ISCEV) が推奨する protocol⁽⁴⁾ に準拠している. ERG の記録はすべて背景光で 10 分間の明順応後に記録した. 記録は座位で行った. Up-slope および down-slope 時間はともに表 1 に従い, 短い時間から順次延長して photopic ERG (以下, slope ERG) を記録した.

ERG の増幅および加算には日本光電社製 Neuropack Σ (MEB-5504) を使用した. 得られた ERG 波形は low-cut filter 0.5 Hz, high-cut filter 1 kHz で処理したものを 7~10 回加算平均した. 刺激間隔は 3 sec とした. 律動様小波の記録には low-cut filter 100 Hz, high-cut filter 1 kHz を用いた. 得られた ERG a 波と律動様小波の O1, O2 は, 図 5 のごとく頂点潜時ならびに振幅を計測し, それぞれ平均値および標準偏差を算出した.

これとは別に slope ERG と, 低い刺激輝度で記録した矩形波光刺激による ERG との差異を確かめるために, 正常者 1 例 1 眼において矩形波刺激光の刺激輝度を変化させて ERG を記録した.

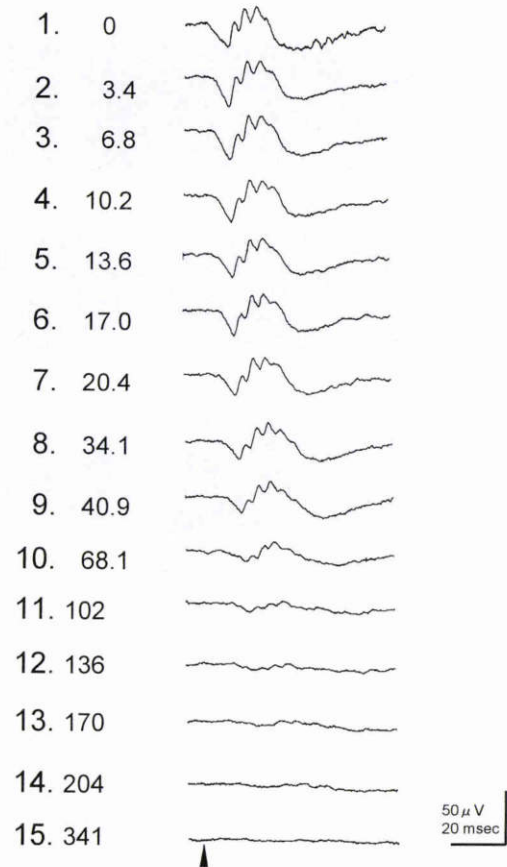


図6 Up-slope 時間を変更して記録した ERG の推移. 矢じりは光刺激開始点, ERG 横の数値は up-slope 時間.

III 結 果

正常者で記録した各 slope 時間における photopic ERG の推移の 1 例を示す(図 6, 7). ON 応答, OFF 応答ともに slope 時間を延長して記録するに従い, 各波形成

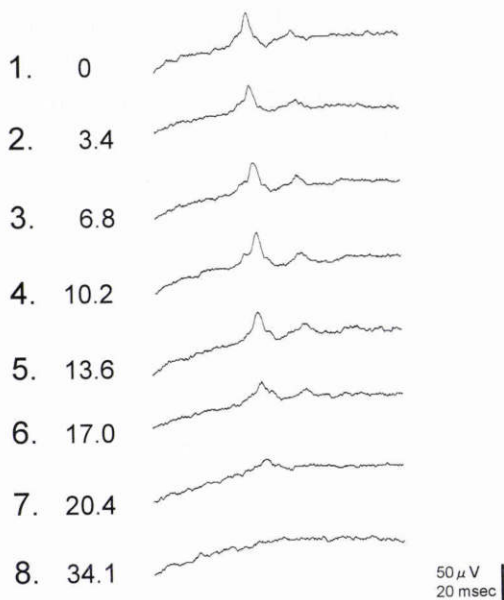


図7 Down-slope時間を変更して記録したERGの推移。いずれも up-slope 時間を 3.4 msec に設定し, 光刺激開始から 70 msec の時点から表示している。ERG 横の数値は down-slope 時間。

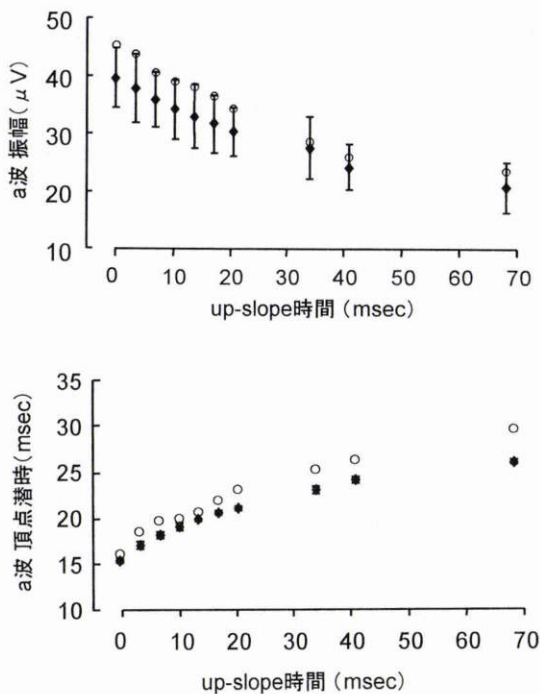


図8 Up-slope 時間を変化させた時の a 波の変化。上図は振幅を, 下図は頂点潜時を示す。up-slope 時間の延長に伴って潜時の遅れが顕著になった。図中の縦線分は標準偏差を示す。
◆: 正常群, ○: 糖尿病網膜症症例

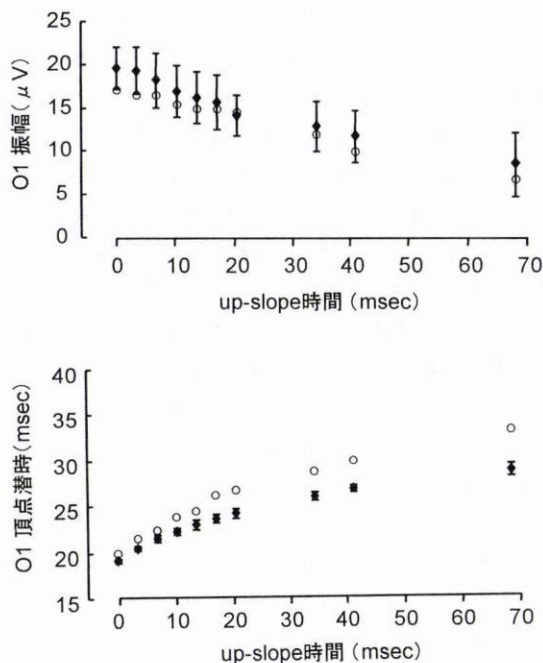


図9 Up-slope 時間を変化させた時の律動様小波 O1 の変化。

図中の縦線分は標準偏差を示す。
◆: 正常群, ○: 糖尿病網膜症症例

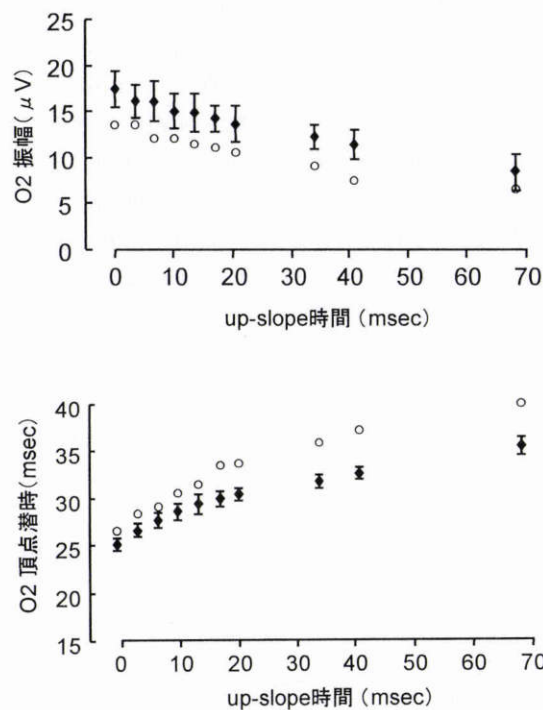


図10 Up-slope 時間を変化させた時の律動様小波 O2 の変化。

図中の縦線分は標準偏差を示す。
◆: 正常群, ○: 糖尿病網膜症症例

分の振幅低下および頂点潜時の延長がみられた。Up-slope 時間を 341 msec に設定した時には ON 応答が消失し(図 6, ERG 15), さらに up-slope 時間を延長しても ON 応答は現れなかった(図略)。OFF 応答については

down-slope 時間を 17.0 msec に設定した時に振幅の低下が明らかとなり(図 7, ERG 6), 34.1 msec に設定した時に OFF 応答が消失した(図 7, ERG 8)。OFF 応答の消

失現象は、ON 応答が消失した slope 時間よりも短い時間でみられた。さらに、down-slope 時間を延長しても波形が現れることはなかった(図略)。

記録した被検者全例の ERG 各波の、振幅と頂点潜時の平均値および標準偏差を図 8~10 に示した。a 波、O1、O2 の各波形成分において計測可能であった up-slope 時間 68.1 msec までの検討結果を示す。全例で up-slope 時間の延長とともに振幅の低下と頂点潜時の延長がみられた。正常者における a 波振幅の標準偏差は $3.93 \mu\text{V}$ (up-slope 時間 40.9 msec) ~ $5.84 \mu\text{V}$ (同 34.1 msec) であった。a 波頂点潜時の標準偏差は 0.2 msec (up-slope 時間 17.0 msec) ~ 0.47 msec (同 10.2 msec) であり、振幅の計測結果と比較してばらつきは少なかった。

糖尿病網膜症症例では、正常者に比して頂点潜時の延長が slope 時間の延長に伴って顕著となった。矩形波光刺激、すなわち up-slope 時間が 0 msec の時には a 波頂点潜時の延長は僅かにあるのみであったが、up-slope 時間が 68.1 msec の時には正常者の平均値よりも約 5 msec の遅れがみられた(図 8)。正常者における律動様小波 O1、O2 の振幅の標準偏差は、それぞれ $2.31 \mu\text{V}$ (up-slope 時間 20.4 msec) ~ $3.72 \mu\text{V}$ (同 68.1 msec)、 $1.32 \mu\text{V}$ (up-slope 時間 34.1 msec) ~ $2.24 \mu\text{V}$ (同 6.81 msec) であった。O1、O2 の頂点潜時の標準偏差は、それぞれ 0.21 msec (up-slope 時間 3.41 msec) ~ 0.67 msec (同 13.6 msec)、0.61 msec (up-slope 時間 20.4 msec) ~ 1.04 msec (同 13.4 msec) であった。糖尿病網膜症症例における律動様小波の振幅は、up-slope 時間を次第に延長させた場合に、O1 では正常者の平均値の範囲内にあり、O2 では僅かに低下していたが、いずれも正常者の結果にほぼ平行して推移していた(図 9)。糖尿病網膜症症例における律動様小波の頂点潜時は O1、O2 ともに slope 時間を延長させるに伴って、正常者に比して延長の度合いが顕著となった。Up-slope 時間が 0 msec の時には延長は僅かであったが、up-slope 時間が 68.1 msec の時には正常者の平均値よりもいずれも約 5 msec の遅れがみられた(図 10)。

一方で、正常眼において矩形波光刺激の刺激光輝度を

低下させていくと、得られる photopic ERG は刺激光輝度の低下に伴って振幅の低下がみられた。下段に同程度の振幅をもつ slope ERG を示した。a 波頂点潜時は slope ERG で大きく遅延した(図 11)。

IV 考 按

ERG は、光刺激に伴って生じる網膜の電氣的活動を集めて得られる電位である。ERG の波形およびその意味は刺激光の性質、例えば明るさ、持続時間、照射する範囲などの条件によって大きく異なる。眼科臨床に用いられている bright-flash ERG, scotopic ERG, photopic ERG などはすべて刺激光および背景光の輝度および刺激時間を各々設定して記録されるものである。いずれの ERG でも記録するに当たり、明瞭な波形を得るために ON と OFF が急峻な光刺激形状を古くから用いてきた。今回の実験で長い slope 時間ほど ERG の振幅が低下したという事実(図 8~10)から、振幅が大きく明瞭な ERG を得るには変化の急峻な光刺激が有用であることは明白である。従来の方法では、刺激光の変化を精密かつ定量的に変化させることが困難であり、また、あえてこのような刺激方法をとることもなかった。今回、我々はこの光刺激形状に着眼し、ON および OFF が緩徐にしかも任意の波形で変化する slope 光刺激を用いて正常眼の photopic ERG を記録した。LED 電極は、現在 slope 光刺激が得られる唯一の ERG 電極である。内蔵した白色 LED (NSPW 310 AS) は青色 LED に蛍光体を組み合わせたもので、今回の ERG 記録条件では LED に流す電流量とその発光強度はほぼ比例関係にある(図 12)。したがって、通電量のコントロールによって精度の高い slope 光刺激を得ることができる。

明順応下に比較的長時間の矩形波光刺激で photopic ERG を記録すると、明瞭な ON 応答と OFF 応答が分離記録できることは知られている⁹⁾。今回、この ON および OFF 成分を分離記録した photopic ERG 成分について検討した。

ON および OFF 応答は up-slope および down-slope 時間の延長とともに徐々にその振幅が低下し、頂点潜時

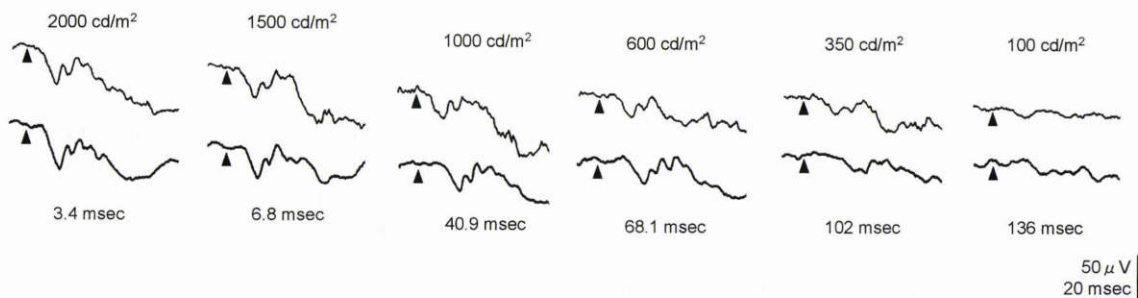


図 11 矩形波光刺激の刺激光輝度を変化させて記録した photopic ERG.

上段に刺激光輝度を変化させた photopic ERG を、下段に同程度の振幅をもつ slope ERG を並列で示した。いずれも同一被験者で記録したものである。a 波頂点潜時は slope ERG で大きく遅延した。

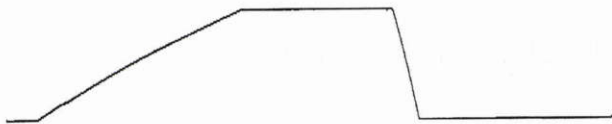


図 12 双極型 LED 電極の発光実測図。

LED 電極に流す背景輝度から最大輝度までの駆動電流の一連の変化(直線増加→定常電流→直線減少)を、可視光用のフォトダイオードで計測した。最大輝度は $1,900 \text{ cd/m}^2$ 、刺激光増加時間は 68.1 msec 、刺激光減少時間は 6.8 msec とした。LED 電極の発光輝度の変化は駆動電流とほぼ直線関係にあった。

も延長して最終的に ERG は消失した。この場合の消失とは、通常の photopic ERG を記録する際の増幅度で、全く波形をみない状態を示す。ERG は光刺激に対する網膜構成細胞の膜電位変化およびイオン流の変化をとらえたものである。一般に ERG の a 波は、暗所において視細胞外節に流入していた Na イオン(暗電流)が光刺激により遮断されて瞬時に減弱するため、見かけ上角膜側陰性の電位として得られるとされている⁹⁾。本研究では、ERG は一定以上の長さの slope 光刺激によって消失した。暗電流の遮断が急峻な光刺激によりもたらされるものであるとすれば、slope 光刺激を網膜面に照射した場合には矩形波光刺激よりも暗電流の減弱が緩徐に行われると仮定し得る。ERG の陰性波(主に a 波)と陽性波(主に b 波)が消失する理由として、slope 光刺激はその光の特性から通常の光刺激よりも網膜における光情報解析に時間を必要とし、波形としてとらえることができなくなるものと考えている。ERG の各波形成分は発生源を異にしているが、今回の実験においてこれら性質の異なる ERG 波形がすべて一様に変化したことも特徴的である。

正常眼において矩形波光刺激の刺激光輝度を変化させて photopic ERG を記録すると、刺激光輝度が低くなるに伴って波形振幅の低下がみられる(図 11)。この場合も頂点潜時は刺激光輝度が低いほど延長するが、slope 光刺激によるものと比較してもその延長は僅かである。また、刺激強度が低下すれば、律動様小波の減弱が先にみられ、a, b 波は最後まで残存した。ISCEV が protocol を提唱している⁹⁾ように、ERG にはある程度の刺激光輝度がないと臨床的に必要とする情報量が得られない。低輝度の矩形波光刺激は単に ERG の質を低下させているだけであり、臨床的には有用ではないことはよく知られている。これに対して slope ERG は、刺激の最高輝度を低下させることなく、up-slope 時間の延長に伴って各波形成分が一

様に变化した。また、各波形成分の頂点潜時も slope ERG では大きく延長していた。この結果によると、slope ERG にみられる振幅および頂点潜時の変化は、単純に刺激光の強度に依存するものではないといえる。

Slope ERG 各波形成分の標準偏差を求めると、頂点潜時のばらつきは振幅のそれに比してはるかに小さかった。正常眼では、頂点潜時において比較的安定した値が得られるといえる。したがって、正常眼と病眼の波形を比較検討する際には、頂点潜時の計測値が有用と思われる。今回は糖尿病網膜症の 1 例のみについて検討するにとどまったが、矩形波光刺激で記録した場合よりも slope ERG で頂点潜時の延長が顕著に現れたという結果が得られた。第 2 報ではさらに多数例の糖尿病症例について検討し、臨床的に応用できるかを検討する。また、slope ERG を臨床検査として利用するためには多くの正常眼で年齢別に検討するとともに、糖尿病網膜症以外の網膜疾患についても同様の方法で記録する必要がある。また、今回のように多数の条件設定で記録すると、検査が長時間になり被検者の身体への負担が著しい。一般臨床に応用するために、検査が短時間で、かつ良好な結果が得られる最適な光刺激条件も求めたいと考えている。

稿を終えるに当たり、本研究に技術協力下さいました(有)MAYO および京都コンタクトレンズ(株)の諸氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 田原恭治, 楠部 亨, 北谷和章, 初川嘉一, 大鳥利文: 高輝度発光ダイオードを用いた光刺激装置. 第 1 報 フリッカー ERG 刺激装置の試作. 眼紀 38: 1833—1839, 1987.
- 2) 田原恭治, 楠部 亨, 北谷和章, 初川嘉一, 大鳥利文: 高輝度発光ダイオードを用いた光刺激装置. 第 2 報 ROM 発振器の利用. あたらしい眼科 4: 1289—1292, 1987.
- 3) 宇野直樹, 田原恭治, 大鳥利文: 白色発光ダイオード内蔵の双極型 ERG 電極の試作. 眼紀 49: 252—257, 1998.
- 4) Marmor MF, Arden GB, Nilsson SE, Zrenner E: Standard for clinical electroretinography. Arch Ophthalmol 107: 816—819, 1989.
- 5) Brown KT: The electroretinogram. Its components and their origins. Vision Res 8: 633—677, 1968.
- 6) Stryer L: Cyclic GMP cascade of vision. Ann Rev Neurosci 9: 87—119, 1986.