

有色家兎 ERGc 波・常在電位の明・暗順応中の動態 (図6)

直井 信久・本田 孔士 (京都大学医学部眼科学教室)

The ERG C-Wave During Adaptation to the Dark and the Light in Pigmented Rabbit

Nobuhisa Nao-i and Yoshihito Honda

Department of Ophthalmology, Faculty of Medicine Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606 Japan

要 約

1) 短時間刺激を用いて rod-triggered c-wave を誘発し暗順応過程を見た。前明順応強度が253lux 以上の場合 c 波振幅は20分以後に極小値をとった。極小値をとる時間は前明順応光が強くなるほど短縮した。常在電位の同時記録から c 波振幅の極小は常在電位の暗極小に一致した。これらの所見は長時間刺激を用いた場合と全く一致した。この c 波振幅の極小が錐体と桿体の干渉の結果であるとする証拠は得られなかった。前明順応光強度を253lux 以上にした場合 c 波振幅は初期に極大値をとった。この極大は受容体機能の回復による c 波振幅の増大と常在電位の低下に伴う c 波振幅の減少とが干渉した結果と考えた。2) 短時間刺激と長時間刺激の両者を用いて c 波を誘発し明順応過程をみた。両者とも明順応開始初期の c 波振幅は小さいが、しだいに増大し極大値をとった。この極大は常在電位の明極大に一致した。3) 以上の結果より家兎においても c 波振幅は常在電位の変動と密接な関連を持つ事が判明した。(日眼 91: 168—173, 1987)

キーワード: ERG, c 波, 網膜色素上皮, 常在電位, 順応

Abstract

The rod-triggered c-wave which obeys the reciprocity law can be well separated from cone-triggered c-waves by using short stimulus light. We recorded c-waves of the pigmented rabbit ERG during dark and light adaptation by using short and long stimulus light. 1) Dark adaptation. We used short light stimuli (0.1sec) in this series. After strong (253 lux or over) pre-adaptation with light, the amplitude of the c-waves increased during dark adaptation, reaching a maximum, and then decreased gradually to a nadir at about 20 min or over after the onset of the dark. Simultaneous recording of the standing potential revealed that this nadir reflected the dark-trough of the standing potential. These findings are in accordance with previous findings on the c-wave elicited by long stimulus light (Nao-i et al., 1985). We could not find any evidence that this nadir was produced by interference between cones and rods. We concluded that the nadir following the initial maximum of the c-wave amplitude was produced by interference between the increase in c-wave amplitude caused by the recovery of the photoreceptor function and the decrease influenced by the standing potential. 2) Light adaptation (20 or 10 lux background light). We used long (6 sec) or short (one sec) stimuli in this series. With either stimulus, the c-wave amplitudes were small initially, increased gradually and reached a maximum. Simultaneous recording of the standing potential revealed that this maximum reflected the light peak of the standing potential. 3) These results suggest that changes in the c-wave amplitude and standing potential are closely correlated in rabbit. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 91: 168—173, 1987)

別刷請求先: 606 京都市左京区聖護院川原町53 京都大学医学部眼科学教室 本田 孔士

Reprint requests to: Yoshihito Honda, M.D. Dept. of Ophthalmol., Faculty of Med., Kyoto Univ.

53 Shogoinkawara-cho, Sakyo-ku, Kyoto 606, Japan

(昭和61年9月4日受付) (Accepted September 4, 1986.)

Key words: electroretinogram (ERG), c-wave, retinal pigment epithelium, standing potential, adaptation

I 緒 言

ERGc波は暗順応又は明順応中に一定のパターンで変化することがヒト¹⁾²⁾、ネコ³⁾、サル⁴⁾などで既に報告されているが、有色家兎のc波については、これまで報告されてきた他の温血動物とは異なった興味がある。一つはHuとMarmor⁵⁾が1982年に報告したもので、彼らは常在電位 standing potential の明極大 light peak が認められるのにc波振幅がほぼ一定である例を示し、家兎では他の動物と異なりc波振幅が常在電位に一致して変動しないと結論している⁶⁾。もう一つは、家兎網膜が混合網膜とはいうものの髄翼部に非典型的な錐体を含むのみで受容器細胞のほとんどが桿体からなる桿体優位網膜である⁷⁾という点である。われわれは有色家兎のc波暗順応曲線について既に報告⁸⁾したが、今回は暗順応過程については短時間刺激を用いて、また明順応過程についても新たに検討し、興味ある知見を得たので報告する。

II 実験方法

家兎c波の記録法の詳細は既報^{9)~11)}の通りである。実験動物として体重約2.5kgの成熟有色家兎を用いた。家兎は箱に固定後、初回静注(urethane 400mg/kg)と点滴静注(同200mg/kg/時)の混合法にて麻酔した。被験眼に0.5% tropicamide および0.5% phenylephrine hydrochloride (ミドリンP®)ならびに1% atropine を点眼し極大に散瞳させ、瞳孔電位¹²⁾¹³⁾の混入を防いだ。ERGの導出には亜鉛—硫酸亜鉛不分極電極を組みこんだコンタクトレンズ型電極を関電極とし、別に両耳朶に不関電極及び接地電極をおいた。光刺激には1,000W タングステンランプ光をガラスファイバーにて眼前4cmに導き、形成される円が眼球全体をおおうようにした。刺激光の強度は中性フィルターを用い必要に応じて減少させた。

信号は直流増幅器(日本電気三栄117B, 1243)で増幅され、シグナルプロセッサ(日本電気三栄SP7 S06)及びペンレコーダーで記録された。記録されたデータはコンピューターディジタイザシステム(日本電気PC8801-K510)で解析した。

暗順応過程を調べる実験においては先ず10⁹lux以下の前暗順応を30分間行った後、3, 30, 253, 1,030

および10,100luxの強度の明順応光で5分間明順応を行った。この後、10⁹lux以下の暗順応を開始、これを0時点として各経過時におけるc波振幅を測定した。

明順応過程を調べる実験においては、先ず10⁹lux以下の暗順応を60分間行った後10lux又は20luxの明順応を開始、これを0時点として各経過におけるc波振幅を測定した。c波振幅は基線からc波頂点までとした。

III 結 果

1. 暗順応過程について

前明順応強度を3, 30, 253, 1,030および10,100luxのいずれかとした後に暗順応を負荷した場合のERGc波振幅の経時変化を示したのが図1である。各点は3羽の平均値に基いている。刺激光強度は角膜面10,100lux, 刺激間隔4分, 刺激時間は0.1秒と前報⁸⁾に

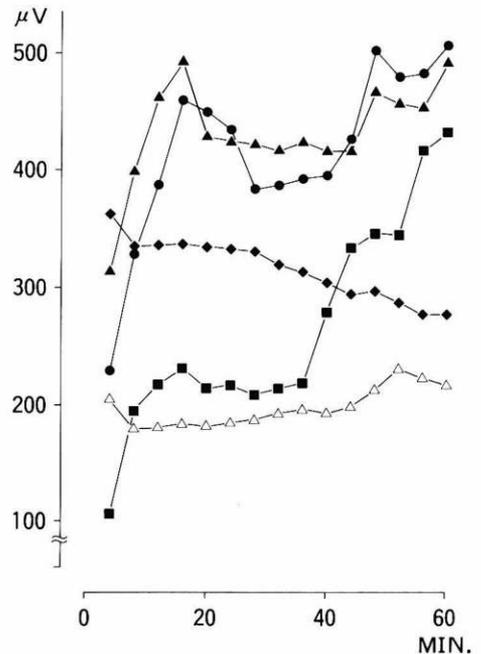


図1 前明順応光強度を3, 30, 253, 1,030, 10,100luxに変化させた場合の短時間光刺激によるc波振幅の変動。各点は3羽の平均値に基づく。前明順応光強度: △—△ 3lux, ◆—◆ 30lux, ▲—▲ 253lux, ●—● 1,030lux, ■—■ 10,100lux, 刺激光強度10,100lux, 刺激時間0.1秒, 刺激間隔4分。

比し短時間刺激を用いた。

前明順応光強度が3および30luxと弱い場合、暗順応後のc波振幅は、特に固有の変動を示すことなくほぼ一定であった。前明順応光の強度を253luxにした場合、入暗後c波振幅は増大し16分後に極大値をとった後漸減し、40分付近で極小値をとった。その後波高は再び漸増に転じた。前明順応を1,030luxにした場合も、波高は16分後に極大値をとった後漸減し、28分後に極小値をとり、その後漸増した。前明順応光を10,100luxと最強にした場合、振幅は入暗16分後に極大値をとった後漸減し、28分後に極小値をとりその後漸増した。

入暗後初めに認められる極大値は、今回の実験条件においては前明順応光を253lux以上にした場合に認められ、前明順応光の強さに関わりなく入暗16分後に認められた。

入暗後20分以降に出現する極小は前明順応光が3または30luxと弱い場合には認められず、253lux以上の場合に認められた。極小値をとる時間は253luxで40分、1,030luxで28分、10,100luxで28分であり、個々の例においても前明順応光が強いほど短縮傾向が認められた。

前明順応光が253lux以上の場合、50分以降にも小さなc波振幅の極小が認められた。

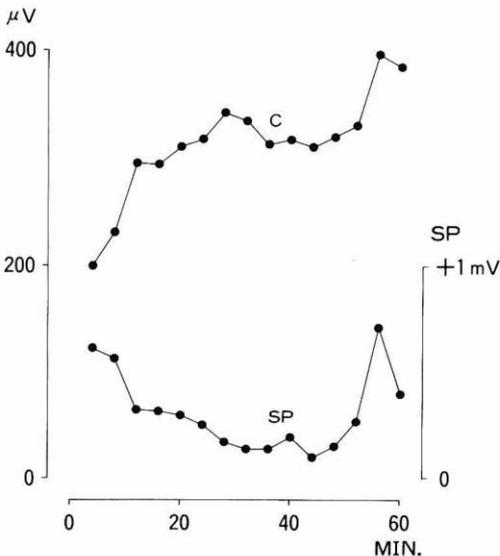


図2 前明順応光強度を1,030luxにした際の暗順応後のc波振幅と常在電位(SP)の変動を記録した1例。前明順応光1,030lux, 刺激光強度10,100lux, 刺激時間0.1秒, 刺激間隔4分。

図2は前明順応光1,030luxの条件下でc波振幅および常在電位を同時記録した1例である。本例においてはc波振幅は初期の増大の後、漸減に転じ、44分で極小値をとった。常在電位は、入暗後漸減しやはり44分で極小値をとった後漸増した。

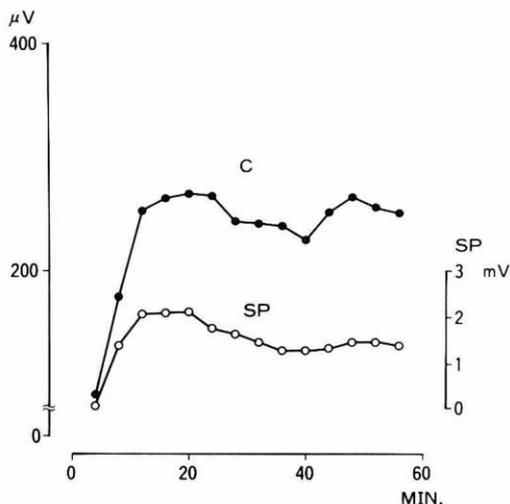


図3 60分の前暗順応の後、背景光20luxを負荷した場合のERGc波振幅と常在電位(SP)の変動。各点は3羽の平均値に基づく。刺激光強度1,030lux, 刺激時間6秒, 刺激間隔4分。

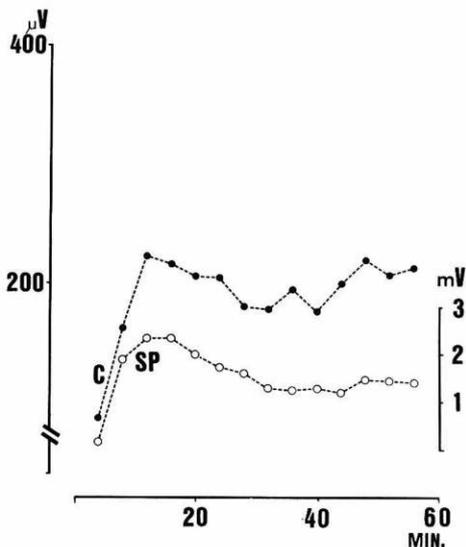


図4 60分の前暗順応の後、背景光20luxを負荷した場合のc波振幅と常在電位(SP)の変動を示した1例。刺激光強度1,030lux, 刺激時間6秒, 刺激間隔4分。

2. 明順応過程について

図3は、60分の前暗順応の後、明順応として背景光20lux(角膜面)を負荷した場合の ERGc 波振幅および常在電位の経時変化を示したものである。各点は3羽の平均値に基づいている。刺激光強度は角膜面1,030 lux, 刺激時間6秒, 刺激間隔4分とした。

背景光点灯後のc波振幅は、初期には小さいものであったが急速に増大し、20分後に極大値をとった。そ

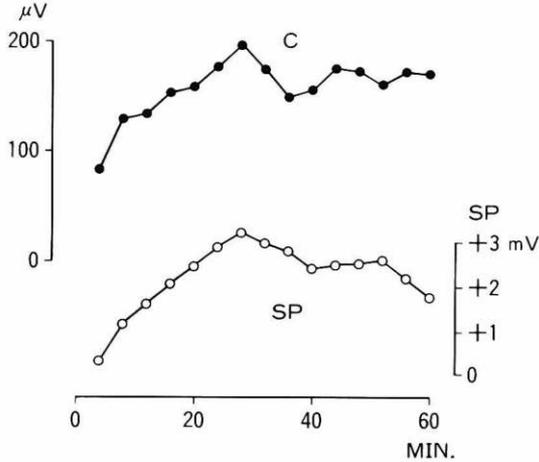


図5 60分の前暗順応の後、背景光10luxを負荷した場合の ERGc 波振幅と常在電位 (SP) の変動。各点は3羽の平均値に基づく。刺激光強度10,100lux, 刺激間隔4分, 刺激時間は1秒と短い。

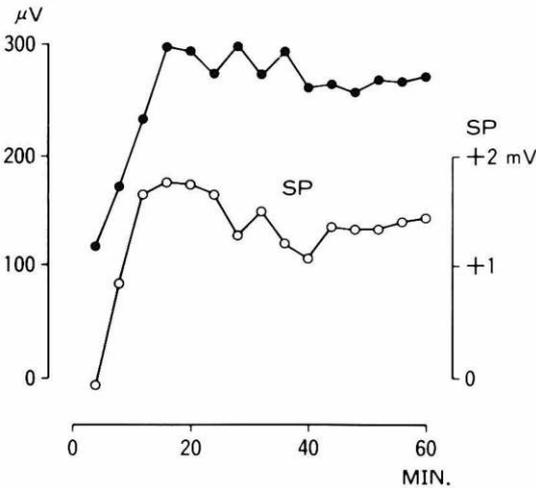


図6 60分の前暗順応の後、背景光10luxを負荷した場合のc波振幅と常在電位 (SP) の変動を示した1例。刺激光強度10,100lux, 刺激時間1秒, 刺激間隔4分。

の後波高は漸減し40分後に極小値をとった後再びやや増加傾向を示した。20分後にあらわれた極大値は常在電位の明極大 light peak とほぼ一致した。個々の例においてもc波振幅の極大と常在電位の明極大がほぼ同時点で得られるという所見が試みたどの例においても認められた(図4)。

刺激光時間を短時間にした際のc波及び常在電位の経時変化を示したのが図5である。60分の前暗順応の後、明順応として10lux(角膜面)を負荷した。各点は3羽の平均値に基づいている。刺激光強度は角膜面10,100lux, 刺激時間1秒, 刺激間隔4分とした。

背景光点灯後のc波振幅は徐々に増大し、28分後に極大値をとった。その後波高は漸減し36分後に極小値をとった後再び増加傾向を示した。28分後にあらわれた極大値は常在電位の明極大と一致した。個々の例においてもc波振幅の極大と常在電位の明極大がほぼ同時点で得られるという所見が試みたどの例においても認められた(図6)。

IV 考 按

1. 暗順応過程について

われわれは前報⁸⁾において既に有色家兎を用い暗順応のc波振幅への影響を考察している。その要点は、①前明順応強度が122lux 以上の場合、c波振幅は20分以後に極小値をとり、極小値をとる時間は前明順応光が強くなるほど短縮する。②常在電位の同時記録からc波振幅の極小は常在電位の暗極小にほぼ一致する。③前明順応強度を253lux 以上にした場合c波振幅は、8分後に極大値をとる。この極大は桿体機能の回復によるc波振幅の増大と常在電位の低下に伴うc波振幅の減少とが干渉した結果と考えた。の3点である。これに対して吉村ら¹⁴⁾は、c波振幅が暗順応過程においてこのように2相性の増大過程をとることに同意した上で、初期のc波振幅の増大は錐体機能の増大によるものであり、その後桿体機能の増大に伴う(おそらく水平細胞を介した)錐体機能の抑制のためにc波振幅は一時的に減少し、さらに時間を経て、桿体機能のゆっくりした増大に伴ない再びc波振幅が増大するとの考えを示した。1985年にWiolandとBonaventure¹⁵⁾は錐体優位網膜において種々の刺激時間を用いてc波を記録した結果から、cone-triggered c-waveはそのすみやかな時間特性により、刺激時間をこえてc波が現われないことがない(time integrationがない)ことを見出し、これを応用して、混合網膜においても短時間刺

激を用いることにより、純粹の rod-triggered c-wave を分離できることを報告している。この考えに従えば今回の暗順応過程の実験に用いた0.1秒という短時間刺激により誘発されるc波もまた rod-triggered c-wave といえることができる。c波振幅は、Bloch's law (reciprocity law)に従うため、エネルギーの等しい光量(刺激光強度×刺激時間)に対しては一定の範囲ではほぼ同じ振幅が得られる。今回の実験ではこのため前報⁸⁾の長時間刺激の実験に比べ十分に刺激光強度を強くした。

今回の結果において前明順応光強度が3又は30luxと弱い場合入暗後のc波振幅は特に固有の変動を示すことなくほぼ一定であった。これは前明順応光が弱く有効な明順応とならなかったものであろう。253lux以上の前明順応光を与えた場合、入暗後20分以降にc波振幅は極小値をとる。また極小値に至る時間は前明順応光が強いほど短縮した。そして、図2に示したように、c波振幅の極小と常在電位の暗極小とはほぼ一致することを確認した。これらの結果は、前報に示した長時間刺激によるc波と、今日得られた短時間刺激によるc波の暗順応過程に本質的な差異が認められないことを示している。吉村ら¹⁴⁾の考えあるいは菅原ら¹⁶⁾の考えに従えば、このc波振幅の極小は初期に急増した錐体優位のc波がその後の桿体の感光性の増大に伴う錐体機能の抑制の影響を受けて減少したためとなる。しかし rod-triggered c-wave を分離した短時間刺激によるc波において、このような極小が認められるという今回の実験結果から考えるとこの極小が桿体による錐体機能の抑制によるものとは考えにくい。また、われわれが前報で示し、吉村ら¹⁴⁾も示した様に、ヨード酸ソーダ静注により色素上皮を障害して分離したslow P IIIが主たる成分であると考えられるslow negative potentialは暗順応中にこのような極小値を示さない。もし極小の原因が2種類の受容体細胞の水平細胞を介した干渉であるとすれば受容体電位であるslow negative potentialが全く、そのような影響を受けていないのは理解しがたい。図2に示したようにc波振幅の極小と常在電位の暗極小が、前報⁸⁾の長時間刺激と同様に今回の短時間刺激においてもほぼ一致するという結果が得られたことから暗順応中にあらわれるc波振幅の極小は常在電位の暗極小に一致してあらわれるc波振幅の変動であるとわれわれは考えたい。では暗順応過程の初期にあらわれた極大は何故存在するのであろうか、われわれは前報⁸⁾において示したよ

うに初期の極大は、受容体細胞の機能の回復によるc波振幅の増大と常在電位の低下に伴うc波振幅の減少とが干渉したためと解釈している。

前報⁸⁾で示した、長時間刺激によるc波と、今回示した短時間刺激によるc波は、どちらも初期に極大を示すという点では一致していた。しかしその極大値をとる時間は、長時間刺激c波では8分後であったが短時間刺激c波では16分後と延長していた。このことは、長時間刺激によるc波は桿体及び錐体両者によるc波であり、短時間刺激によるc波はrod specific c波であるために前者の方が暗順応過程における経過が速いためと考えられる。逆にこの経過は、長時間刺激c波には少数ながらも錐体の影響が、短時間刺激c波にはrod specificな影響が認められる1つの証拠ともなりうる。

2. c波振幅の明順応過程について

c波の明順応過程については、人眼¹²⁾、猫眼³⁾、猿眼⁴⁾等においてc波振幅が常在電位と一致した極大を示すことが示されてきた。しかし家兎眼についてはHuおよびMarmor^{5,6)}が明極大が明らかに認められるのにc波振幅がほぼ一定である例を示し、家兎眼はc波振幅が常在電位に一致して変動しないと報告したため他の種と異なっていると考える向きもあった。しかし今回の実験からc波振幅は背景光点灯後しばらくは小さいものであったが急速に増大し、20分前後で増大値をとった後漸減するという結果が得られた。このことは刺激光を1秒間と短時間にしても(暗順応過程の実験で用いた刺激に比べ1秒間は長いともいえるが短時間と長時間の区別はc波頂点潜時に比し長いか短いかで決定される。)ほとんど同様のパターンを示した。このように今回の実験結果からみると、家兎眼においてもc波振幅と常在電位の一致がはっきり認められ、家兎のみが他の種と異なっているとは考えられなかった。c波と常在電位の明極大は、共に色素上皮に依存する電位であるが、その発生機序は決して同一でない。c波は視細胞の過分極に伴う網膜下腔のカリウムイオン濃度の減少に伴って発生するが、明極大は、カリウムイオン濃度とは無関係であるとされている¹⁷⁾。このため当然、c波と常在電位とはその消長が一致しないことがありうる。例えば家兎¹⁸⁾やカメ¹⁹⁾あるいはネコ²⁰⁾においてc波が消失しても常在電位の明極大または暗極小は存在し、また高浸透液の点滴静注によってヒトの明極大が抑制されるのに対してc波は振幅が増大する²¹⁾。しかしLisenmeiyerら²²⁾が猫眼を用いた報

告の中で常在電位の明極大に一致する c 波振幅の極大が色素上皮の basal membrane の抵抗の減少に起因している可能性をモデルを用いて数学的に示しているが動物差はあれ、家兎においても同様のことが推察される。

家兎はヒト、ネコ、ヒツジ等と比べて、ある意味で特殊な存在である。例えば網膜血管が少ないし、また視細胞が虚血に対して強い²³⁾。また常在電位や c 波が高張液やアセタゾールアミドに対して反応しない²⁴⁾など他の種と異なった反応を示す。また、家兎の明極大はヒトやサルに比べて長い時間を要するし²⁵⁾、また c 波はラットやサルに比べて大変大きい。このため Hu と Marmor⁵⁾⁶⁾が述べているように、家兎において常在電位と、c 波の増減が一致しなくても全く不思議ではないのであるが、実際は今回示したようにかなりの点でよく一致するように思われた。彼らとわれわれの結果の差がどこから生じるのか明確には判断できないが彼らが用いている麻酔(ウレタンとケタラルールの併用)が原因である可能性が考えられる。

(本研究は文部省科学研究費61440075の支援による。)

文 献

- 1) Nilsson SEG, Skoog KO: Covariation of the simultaneously recorded c-wave and standing potential of the human eye. *Acta Ophthalmol* (Copenh) 53: 721—730, 1975.
- 2) 田沢 豊: 人眼 ERG・c 波の特性と臨床応用. *眼紀* 31: 1223—1248, 1980.
- 3) 二唐東朔, 佐藤 慧, 菅原洋子, 高松隆常, 三田俊定: 猫眼の c 波と常在電位との関係. *岩手医誌* 26: 406—413, 1974.
- 4) Gouras P, Carr RE: Primate retinal responses: Slow changes during repetitive stimulations with light. *Science* 145: 413—414, 1964.
- 5) Hu KG, Marmor MF: The relationship between the c-wave and light response of the rabbit eye. *Acta Ophthalmol* (Copenh) 60: 998—1005, 1982.
- 6) Hu KG, Marmor MF: Selective action of barium on the c-wave and slow negative potential of the rabbit eye. *Vision Res* 24: 1153—1156, 1984.
- 7) Prince JH: *The Rabbit in Eye Research*, 391, Charles C Thomas, Springfield, Illinois, 1964.
- 8) 直井信久, 金 時烈, 本田孔士: 有色家兎の ERG c 波暗順応曲線について. *日眼* 89: 1166—1170, 1985.
- 9) Nao-i N, Kim S, Honda Y: Some problems involved in employing the ERG c-wave in pharmacological experiments: Conditioning in pigmented rabbits. *Acta Ophthalmol* (Copenh), 63: 567—563, 1985.
- 10) 直井信久, 金 時烈, 本田孔士: 網膜色素上皮のいち機能モニターとしての ERG・c 波の標準化について. 厚生省特定疾患網膜脈絡膜萎縮症調査研究班, 昭和59年度報告書, 123—125, 1985.
- 11) Nao-i N, Kim S, Honda Y: The normal rabbit c-wave. *Docum Ophthalmol* 63: 121—130, 1986.
- 12) 窪田靖夫: ERG 中に含まれる Electropupillogram 成分に就て(予報). *日眼* 67: 377—379, 1963.
- 13) 玉井嗣彦: 諸種薬物の ERG におよぼす影響, 特に c 波について. 第 2 報. ERG に含まれる ERG (Electropupillogram) 成分について. *眼紀* 17: 491—497, 1966.
- 14) 吉村 弦: 家兎 ERG・c 波と slow PIII. 第90回日本眼科学会総会講演抄録, 119, 1986.
- 15) Wioland N, Bonaventure N: A cone-triggered c-wave in the chicken ERG time integration characteristics. *Docum Ophthalmol* 60: 401—406, 1985.
- 16) 菅原洋子, 猪股孝四郎, 佐藤 匡, 二唐東朔: 家兎眼 c 波の暗順応について. *岩手医誌* 21: 146—151, 1969.
- 17) Steinberg RH, Niemeyer G: Light peak of the cat DC electroretinogram: Not generated by a change in K⁺. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 20: 414—418, 1981.
- 18) 猪股孝四郎, 田沢 豊: 種々の薬物が網膜の活動電位ならびに常在電位に及ぼす影響. *岩手医誌* 17: 238—244, 1965.
- 19) 菅原洋子: クサガメの ERG, 特に c 波, 明極大および post-d peak (pd) について. *岩手医誌* 26: 90—100, 1974.
- 20) 佐藤 慧: 猫 ERG の c 波及び d 波の研究. *岩手医誌* 26: 301—313, 1974.
- 21) 河崎一夫, 山本幸子, 米村大蔵: 網膜外層の新機能検査法. *日眼* 81: 1303—1312, 1977.
- 22) Lisenmeier RA, Steinberg RH: A light-evoked interaction of apical and basal membrane of retinal pigment epithelium: c-wave and light peak. *J Neurophysiol* 50: 136—147, 1983.
- 23) Noell WK: Studies on the electrophysiology and metabolism of the retina. USAF. School of Aviation Medicine, Project Number 21-1201-0004, 1-222, Randolph Field, Texas, 1953.
- 24) Yonemura D, Kawasaki K: New approaches to ophthalmic electrodiagnosis by retinal oscillatory potential, drug-induced responses from retinal pigment epithelium and cone potential. *Docum Ophthalmol* 48: 163—222, 1979.
- 25) Rodiek RW: *The Vertebrate Retina: Principles of Structure and Function*, 546, WF Freeman and Co, San Francisco, 1973.