# ニワトリ眼における錐体性 ERG・c 波の解析

一色光順応下のスペクトル特性-

## 高 橋 久仁子

#### 岩手医科大学眼科学教室

#### 要 約

錐体優位網膜であるニワトリ眼を用いて,色光順応で単色光刺激による錐体性 Electroretinogram (ERG)・c 波を記録し,そのスペクトル特性を検討した.順応光は,黄色および赤色フィルターによって,そ れぞれ4種および3種の強さの光を用いた.刺激光は460~620nmの間の単色光を,中性フィルターで強度を 変えて用いた.各単色光毎に,刺激強度と得られたc波振幅とから,黄色ならびに赤色光順応下のc波振幅の スペクトル感度曲線を作図した.その結果,黄色ならびに赤色光順応のいずれの順応強度でも,c波振幅のス ペクトル感度曲線は,520または540nmにピークが認められ,白色光順応の場合の560nmよりも,短波長側へ 偏位していることが判明した.さらに580nmにも小さな山を認めたことから,これらの結果は,480nmより長 波長領域に存在する少なくとも2種類の錐体系に由来する可能性が推察された.(日眼会誌 95:663-668, 1991)

キーワード:網膜電図, 錐体性 c 波, スペクトル特性, 色光順応, ニワトリ

Analysis of Cone-mediated c-waves of the Chicken ERG Using the Spectral Sensitivity under Monochromatic Light Adaptation

#### Kuniko Takahashi

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University

#### Abstract

ERG c-waves were recorded from eyes of anesthetized chickens by stimulating with monochromatic bright light ranging from 460 to 620nm, under yellow or red light adaptation, using various energy levels i. e. 1, 3, 4 and  $5W/m^2$  at the corneal surface in the former, and 3, 4 and  $5W/m^2$  in the latter. After recording a series of c-waves, the spectral sensitivity curve for each adaptation condition was obtained. Amplitude-intensity curves showed that amplitudes increased with increment of stimulus luminance. The energy required to release a response of a given criterion magnitude was determined at each of the wavelengths investigated. The peak wavelength of the spectral sensitivity curve of the c-wave under both yellow and red light adaptation was 520 or 540nm both of which were shorter than the peak wavelength (560nm) under white light adaptation. These results showed that under the yellow and red light adaptation the sensitivity of the c-wave response to monochromatic light in the longer wevelength range was suppressed, suggesting the possibility of isolating cone-mediated c-wave response. A peak (520 or 540nm) and a shoulder (580nm) in the spectral sensitivity curves were presumed to be derived from two types of cone systems. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 95: 663-668, 1991)

Key words: Electroretinogram (ERG), Cone-mediated c-wave, Spectral sensitivity, Monochromatic light adaptation, Chicken

別刷請求先:020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 高橋久仁子

(平成2年7月20日受付,平成2年12月3日改訂受理)

19-1 Uchimaru, Morioka 020, Japan

(Received July 20, 1990 and accepted in revised form December 3, 1990)

Reprint requests to: Kuniko Takahashi, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University.

## I 緒 言

Electroretinogram (ERG)・c 波の発生には、視細胞のうち杆体の機能が主に関与するとされてきた<sup>1)~5)</sup>. しかし近年になって,錐体優位であるカメあるいはヒナの網膜から、錐体細胞起源と思われる頂点潜時と時間経過の短い c 波 (cone-driven c-wave) が記録された<sup>6)7)</sup>. さらに Wioland ら<sup>8)</sup>あるいは福田<sup>9)10)</sup>は錐体性 c 波の存在を明らかにすることを目的として、暗順応あるいは明順応下で、錐体網膜を有する=フトリ眼に単色光刺激を行ない、c 波のスペクトル特性と頂点潜時について検討し、錐体由来のc 波が記録されることを報告した. そこで筆者は、錐体性 c 波をさらに詳細に解明することを目的として、=ワトリ眼に色光(黄色あるいは赤色)順応を行ない、色光順応下での単色光刺激による c 波を記録し、そのスペクトル特性から錐体性 c 波の由来について検討した.

## II 実験方法

#### 1. 実験動物

日齢140~180日で,体重1.2~1.5kgの成熟ニワトリ 22羽22眼を用いた.ニワトリをウレタン<sup>11)</sup>(1.5g/kg 筋 注)で全身麻酔してシールドボックス内の固定器(押 田式)に固定した.瞳孔は,非脱分極性筋弛緩剤であ る臭化パンクロニウム<sup>12)</sup>の点眼で両眼を極大に散瞳さ せた.

#### 2. 順応および光刺激装置(図1)

光源として500Wのキセノンアークランプ(UXL-500)を安定化電源(XD-25,三双製作所)で点灯し, 光路を刺激光側と順応光側の2チャンネルに分けた. 刺激光を得るために,中性フィルター,オプチカル ウェッジおよびその前方に干渉フィルターを置いた. 干渉フィルターは,460~620nmの間で20nm間隔の9 色で,それらの透過率は26~39%,半値幅は8~12nm である.単色光を電磁シャッターを経て,Y字型の ファイバーオプティクスの一端を通じて角膜上3cm の位置に導いた.なお角膜上でのファイバーオプティ クスの直径は1.5cmである.各単色光のエネルギー は、ラジオメーター(47-OD,三双製作所)を用いて測 定した強度が角膜面で7.7 $\mu$ W/cm<sup>2</sup>となるようにオプ チカルウェッジによって調整し、このときの各単色光 の強さを0.0 log unit とした.

順応光は、その光路に中性フィルターおよびオプチ カルウェッジを置き、電磁シャッターを経てY字型の



図1 順応および光刺激装置.上方の光路が刺激光. LH:500W キセノン光源,M:表面鏡,NDW<sub>1,2</sub>:中 性フィルターとオプチカルウェッジの混合型フィル ター,W:オプチカルウェッジ,L<sub>1-4</sub>:レンズ,F: 単色光フィルター,IF:ターレット型干渉フィル ター,SH<sub>1,2</sub>:電磁シャッター,LG:Y字型ファイ バーオプティクス

ファイバーオプティクスの他端を通じて角膜上に導い た. 黄色光順応は, Corning Glass Works 社製 No. 3-67S を通して,角膜面で1,3,4 および 5 $W/m^2$ の 強さの光で順応を行ない,赤色光順応は,Wratten filter No. 29S を通して,角膜面で3,4 および 5 $W/m^2$ の強さの光で順応を行なった.

#### 3. 刺激光の強度,刺激時間および間隔

単色光による刺激強度は、中性フィルターによっ て、-1.0、-0.75、-0.5、-0.25および0 log unit とし た.刺激持続時間は5秒、刺激間隔は90秒に設定した.

#### 4. 電極および記録装置

自作した亜鉛ー硫酸亜鉛不分極電極を用い, 関電極 を被検眼の角膜に, 不関電極を前頭部皮膚に, 接地電 極を後頸部皮膚に装着した.上記の単色光刺激によっ て得られた網膜電位は, 直流増幅器 (AD 610G, 日本 光電)を介してペンレコーダー (PM 8104, 日本光電) にて感度 100μV/cm, 紙送り速度 5mm/sec の条件で 記録した.

#### 5. 前明順応条件

前明順応の時間を設定するために、4W/m<sup>2</sup>の強さの 黄色光あるいは赤色光順応下で500Wの白色光刺激に よって経時的にc波を記録したところ、その振幅は1 時間以内に一定となってからは、2時間までは安定し た波形を維持していた(図2).したがって、以下の実 験では、前明順応時間を1時間とした.

### 6. 色光順応下での単色光 c 波記録の実際

上記の黄色光あるいは赤色光による1時間の前明順 応後,そのまま順応光を持続点灯した状態で,単色光 刺激によって発生したc波を記録した.

7. c 波振幅の計測





c 波振幅は,基線から c 波の頂点までの電位差とした.

#### 8. c 波のスペクトル感度曲線

黄色あるいは赤色光順応下で、各単色光毎に、刺激 強度と得られた c 波振幅とから、amplitude-intensity (A-I)曲線を作図した. この曲線から、c 波振幅がある 一定の大きさ(基準電位:黄色光順応の1W/m<sup>2</sup>では70  $\mu$ V, 3, 4, 5W/m<sup>2</sup>では35 $\mu$ V, また赤色光順応の3, 4, 5W/m<sup>2</sup>では、それぞれ65, 60, 50 $\mu$ V)になるとき の刺激光の強さ(log unit)を各単色光毎に求めた. こ の基準電位を得た各単色光刺激強度のうち、最も弱い 単色光の強さと、その他の単色光刺激の強さとの差を log relative sensitivity とした. このようにして得ら れた各順応強度毎の単色光刺激に対する log relative sensitivity を図にプロットして、黄色光および赤色光 順応下での c 波振幅のスペクトル感度曲線を得た.

なお,基準電位の設定に際しては,Armington ら<sup>13)</sup> の方法に従った.c波は個体間,個体内の変動が大き く,その振幅も低いことから,基準電位をその影響の 少ない値に定めるようにはしたが,順応光の色や強さ の条件によって振幅の変化の様式が一定ではなかった ので,すべての順応下で同一の値に設定することはで きなかった.

### III 結 果

1. 黄色光順応下の c 波スペクトル特性

各記録条件下で、2ないし5眼について記録し、そ れぞれ同一の結果が得られたので、その代表例につい て検討した. 黄色光順応下のc波振幅の代表例のA-I 曲線から、各基準電位に達する各刺激光の強さを読み とり、log relative sensitivity(前記)を算出した. こ の値を図にプロットして得た各黄色光順応下のc波振 幅のスペクトル感度曲線の1例を図3に示した. 順応 光の強さが、1W/m<sup>2</sup>では540nmに、3W/m<sup>2</sup>では520nm にそれぞれピークが認められた.4W/m<sup>2</sup>では、3W/m<sup>2</sup> と同様に520nmにビークがあったが、480nmにも小さ な山を形成した.5W/m<sup>2</sup>では3W/m<sup>2</sup>と同じく520nm にのみピークが存在した.

### 2. 赤色光順応下の c 波スペクトル特性

各赤色光順応下での各記録条件下で,3眼づつ実験 を行い,それぞれ同一の結果が得られ,その代表例に ついて検討した.赤色光順応下のc波振幅の代表例の A-I曲線から,各基準電位に達する各刺激光の強さを 読みとり,この値から log relative sensitivity を算出 した.この値を図にプロットして得た各赤色光順応下 のc波振幅のスペクトル感度曲線の1例を図4に示し た.c波振幅のスペクトル感度曲線は,順応光の強度 が,3,4,5W/m<sup>2</sup>のいずれの場合でも,520ないし

Yellow adaptation



図3 黄色光(1,3,4,5W/m<sup>2</sup>)順応におけるc 波スペクトル感度曲線。

666



ペクトル感度曲線。

540nm にピークがあった.また3および4W/m<sup>2</sup>の場合 には、580nm にも山をもつ2峰性を示した.

## IV 考 按

各種の錐体の機能を色光順応によって分離する試み は、古くはヒトで自覚的な閾値を用いた心理物理学的 検査によって行なわれ、黄色光、青色光ならびに紫色 光順応のスペクトル特性が明らかにされている<sup>14)</sup>. ERGを用いた研究としては、b波について行なった報 告<sup>15)~21)</sup>がこれまでにも多数あり、正常者の黄色光順応 では440nm、赤色光順応では549nm、白色光順応では 566nm 付近にb波の最大振幅を認め、黄色光順応下で は青錐体系が、赤色光順応下では緑錐体系が分離され ている.

ヒト以外では、やはりb波について、ネコ網膜から 黄色光順応下で青錐体系を分離した報告<sup>22)</sup>や、ニワト リのヒナを用いて、黄色光あるいは赤色光順応下でb 波振幅のスペクトル感度曲線を求めた報告<sup>23)</sup>もある.

c波については、これまで、杆体性c波と錐体性c波 の分離の研究の多くは、杆体優位網膜を用いて行なわ れてきた<sup>8)9)24)25)</sup>.しかも、それらは杆体性と錐体性c 波の分離をスペクトル特性を調べることによって行 なったものではないので, 錐体性 c 波の存在に関して は, 不明な点が多く残されていた.近年, 当教室の福 田<sup>9)10)</sup>は, 錐体優位網膜を有するニワトリ眼で, 明順応 あるいは暗順応下で単色光刺激を行い, relative cwave amplitude と log relative sensitivity.および頂 点潜時の変化から c 波のスペクトル特性について検討 し, c 波の発生が杆体および錐体の両者に由来するこ とを確認した.

そこで、今回、ニワトリ眼に黄色あるいは赤色光順 応を行ない. 錐体優位網膜における錐体性 c 波のスペ クトル特性をさらに検討した.

1. 黄色光順応下の c 波スペクトル特性

福田<sup>910</sup>は 200lux の強さの白色光順応のニワトリ 単色光 ERG・c 波振幅のスペクトル特性を測定し,白 色光順応ではそのスペクトル感度曲線は 560nm に ピークがあり,iodopsin の吸光度特性<sup>13)26</sup>に近似して いたことを示した.今回の黄色光順応の結果ではいず れの強さの順応光でも,c波振幅のスペクトル感度曲 線のピークは 520nm または 540nm であって,白色光 順応の場合よりも短波長側へ偏位していた.このこと は,黄色光順応によって長波長側の刺激光に対する反 応が抑制された結果,短波長側の刺激光に対する錐体 の反応が相対的に明瞭になったためと考えられる.

Chen ら<sup>23)</sup>が報告した=ワトリの黄色光順応の b 波 振幅のスペクトル感度曲線と,今回の実験で得られた 5W/m<sup>2</sup>の強さの黄色光順応下の c 波振幅のスペクト ル感度曲線を図 5 に示した.両者の曲線はともに 510~520nm 付近に山を形成し,500~580nm までの 長波長側では近似していた.また,b 波にみられる 420 nm 付近のビークは,c 波では測定していないために確 認できなかった.

2. 赤色光順応下の c 波スペクトル特性

赤色光順応の場合にも,いずれの順応強度でも c 波 振幅のスペクトル感度曲線のピークは 520nm または 540nm にあって,黄色光順応と同様に,白色光順応の 場合よりも短波長側へ偏位していた.

赤色光順応の Chen ら<sup>23)</sup>のニワトリの b 波振幅のス ベクトル感度曲線と、今回の筆者の5W/m<sup>2</sup>の強さの赤 色光順応下の c 波振幅のスペクトル感度曲線とを図 6 に示した.赤色光順応下の b 波振幅のスペクトル感度 曲線のピークは 510nm にあるが、415nm にも小さい ピークが認められている.c 波振幅のピークは 520nm であり、黄色光順応と同様に c 波振幅が非常に小さ

#### 667

## Yellow adaptation 5W/m<sup>2</sup>



図 5 黄色光順応における b 波 (Chen & Goldsmith. 1984)および c 波 (筆者)のスペクトル感度曲線.

かった短波長側を除くと、b波とc波の応答態度はほ ぼ一致していた。

5W/m<sup>2</sup>の黄色ならびに赤色光順応下でのスペクト ル感度曲線を比較すると,前述の如く,赤色光順応下 では黄色光順応下に比べ,560nmより長波長側での反 応が抑制されていた.この反応の差異は,560nmより 長波長側の刺激に対して,黄色光と赤色光のそれぞれ の順応下で異なった反応を示す錐体の存在を電気生理 学的に示唆していると思われる.

## 3. 黄色および赤色光順応下の c 波スペクトル特性 と錐体の反応

これまでに、ニワトリ網膜にはおそらく4種類の visual pigment が存在し、それらの吸光度特性のピー クは、それぞれ413、467、507および562nm である<sup>27)28)</sup> と言われている。今回の黄色光および赤色光順応下に よる実験結果で、c波が測定不能であった460から480 nmの範囲を除いて480nmより長波長側では、c波の スペクトル感度曲線はb波のそれとほぼ一致し、それ ぞれの強さの各順応下で、520nmと540nmにピーク を、580nmに小さな山を認めたことから、この反応は、 これらに一致した2種類の錐体系に由来する可能性が 推察される。460nm以下でのc波測定が困難なため に、413および462nmのvisual pigment の吸光度特性



図 6 赤色光順応における b 波 (Chen & Goldsmith. 1984) および c 波 (筆者) のスペクトル感度曲線.

のピークと一致する結果は得られなかったが,510なら びに560nmの前後で,c波振幅のスペクトル感度曲線 のピークと,visual pigmentの分光吸光度特性のピー クが一致したことから,少なくとも長波長側には,2 種類の錐体が存在すると考えられた.

鳥類の錐体には、赤、黄、緑の3種類の有色油球が 外節基部に存在する<sup>29)</sup>. 今回の結果の解釈にあたって は、この油球の存在を考慮する必要がある. しかし、 色光の順応によって、油球そのものも順応下におかれ ることになるので、今回の結果は油球をも包含した錐 体系のc波のスペクトル特性をみたものとして解釈し てよいものと思われる.

今後,各錐体系由来のc波のスペクトル特性を明瞭 にすることによって,錐体,および錐体に直接関わり のある網膜色素上皮の機能的異常をc波を含めた電気 生理学的現象によって観察することも可能になると思 われる.

稿を終えるにあたり,御指導,御校閲をいただきました田 澤 豊教授に深謝致します.また,直接御指導下さった森 敏郎講師に感謝甲し上げます.

尚,本論文の要旨は第93回日本眼科学会総会にて口演した.



## 文 献

- Steinberg RH, Schmidt R, Brown KT: Intracellular responses to light from cat pigment epithelium: Origin of the electroretinogram c-wave. Nature 227: 728-730, 1970.
- Oakley B, Green DG: Correlation of lightinduced changes in retinal extracellular potassium concentration with c-wave of the electroretinogram. J Neurophysiol 39:1117-1133, 1976.
- Weidner C: The c-wave in the ERG of albino rat. Vision Res 16: 753-763, 1976.
- 4)米村大蔵,河崎一夫,芳野佳克,他:生体眼 ERG における受容器電位の分離.日眼会誌 78:858 -866,1974.
- 5) 田澤 豊: 人眼 ERG・c 波の特性と臨床応用. 眼 紀 31:1223-1248, 1980.
- Matsuura T, Miller WH, Tomita T: Cone specific c-wave in the turtle retina. Vision Res 18: 767-775, 1977.
- 7) Yoneyama T, Sato T, Suzuki TA, et al: ERG c-wave and pigment granule distribution in isolated chick retina: Effects of osmotic pressure variation in vitreal perfusing solution. Jpn J Ophthalmol 30: 306-317, 1986.
- Wioland N, Bonaventure N: Evidence for both photopic and scotopic characteristics in the c-wave of chicken and frog ERG. Vison Res 34: 91-98, 1984.
- 9) 福田 教,高橋久仁子,田澤 豊,他:家兎および ニワトリ眼の単色光 ERG・c 波の検討、眼紀 39: 1071-1077, 1988.
- 福田 敦: ニワトリ眼の単色光 ERG・c 波の検討
  一杆体性 c 波と錐体性 c 波の分離についてー.日
  眼会誌 93:599-609,1989.
- Wioland N, Bonaventure N: Photopic cwave in the chicken ERG: Sensitivity to sodium azide, epinephrine, sodium iodate, barbiturates, and other general anesthetics. Doc Ophthalmol 60: 407-412, 1985.
- 12)米村大蔵,河崎一夫:臨床網膜電図学,東京,医学 書院,78-88,1985.
- 13) **Armington JC**, **Thiede FC**: Electroretinal demonstration of a Purkinje shift in the chicken

eye. Am J Physiol 186: 258-262, 1956.

- 14) Wald G: The receptors of human colour vision. Science 145: 1007-1016, 1964.
- 15) 吉田輝也, 宇治幸隆, 小林雄二, 他:色覚異常者の 色光 ERG 特性について. 眼紀 29: 763-770, 1978.
- 16) 吉田輝也,宇治幸隆,小林雄二,他:先天性色覚異 常者の色光 ERG 特性について(II) 眼紀 30: 690-700, 1979.
- 17) 吉田輝也, 横山 実: 先天性色覚異常者の色光 ERG 特性について (III). 日眼会誌 85: 1456 -1462, 1981.
- 18) 宇治幸隆,竹内文友,横山 実:第2色覚異常の単 色光 ERG. 日眼会誌 88:76-84,1984.
- 19)新里研二,市川 宏,横山 実:先天性3色覚異常のERG特性.日眼会誌 87:1028-1034,1983.
- 20) 宇治幸隆,竹内文友,横山 実:先天色覚異常の単 色光 ERG-色光順応下のスペクトル特性-.日眼 会誌 88:532-539,1984.
- 21) 吉田輝也,小林雄二:人眼 ERG における青錐体系 反応,日眼会誌 83:2055-2062,1979.
- 22) Rabin AR, Mehaffey L, Berson EL: Blue cone function in the retina of the cat. Vision Res 16: 799-801, 1976.
- 23) Chen D-M, Goldsmith TH: Appearance of a Purkinje shift in the developing retina of the chick. J Exp Zool 229: 265-271, 1984.
- 24) 菅原洋子,猪股孝四郎,佐藤 匡:家兎眼c波の暗順応について、岩手医誌 21:146-151,1969.
- 25) 吉村 弦:家兎 in vivo ERG の c 波と slow P III. 3. 明・暗順応における波形変動.日眼会誌 91:1214-1221, 1987.
- 26) Armington JC: The Electroretinogram. New York, Academic Press, 211-214, 1974.
- 27) Govardoskii VI, Zueva LV: Visual pigments of chicken and pigeon. Vison Res 17: 537-543, 1977.
- 28) Fager LY, Fager RS: Chicken blue and chicken violet, short wavelength sensitive visual pigments. Vision Res 21: 581-586, 1981.
- 29) Bowmaker JK, Knowless A: The visual pigments and oil droplets of the chicken retina. Vision Res 17: 755-764, 1977.

668