

電気生理学的にみた剥離網膜の機能

—剥離期間との関係—

亀井 俊也, 森 敏郎, 菅原 岳史, 田澤 豊

岩手医科大学眼科学教室

要 約

家兎生体内で剥離した網膜機能の経時的变化を電気生理学的に検討した。ヒアルロン酸ナトリウムを眼底後極部の網膜下腔に注入し、直径約4mmの網膜剥離を作成した。その後2筒型ガラス管電極の長端を剥離網膜下腔に、短端を硝子体内に設置し、この2極間で剥離網膜からのtransretinal ERG (TR-ERG)を、同時に硝子体内の電極と強膜上の別の電極との間で非剥離部網膜からのvitreal ERG (VERG)を記録した。その結果TR-ERG・b波振幅は剥離後2時間より有意に減少し、96時間でほぼ消失した。一方、VERG・b波は変化しなかった。また、TR-ERGのSlow PIIIはb波とほぼ同一の経過で減弱し、剥離後1時間と比較して12時間で有意に低下し、96時間でほぼ消失した。VERG・c波は減弱する傾向が見られたものの有意差はなかった。家兎の剥離網膜の機能は剥離後すみやかに低下し始め、96時間で消失することが判明した。(日眼会誌 96: 628-633, 1992)

キーワード：網膜剥離, ERG, 剥離期間, ヒアルロン酸ナトリウム, ウサギ

The Viability of the Detached Retina of the Rabbit Eye —Electrophysiological Observation of Influence of Duration of the Detachment—

Shunya Kamei, Toshiro Mori, Takeshi Sugawara
and Yutaka Tazawa

Department of Ophthalmology, School of Medicine, Iwate Medical University

Abstract

The influence of the duration of the retinal detachment on the function of detached retina was electrophysiologically investigated in the rabbit eye. Experimental retinal detachment with a diameter of 4 mm was made by injecting sodium hyaluronate into the subretinal space. The transretinal ERG (TR-ERG) was recorded from the detached retina between a pair of double-barreled microelectrodes of which the longer tip was positioned into the subretinal space, penetrating the detached retina and the shorter tip in the vitreous body. The vitreal ERG (VERG) from the undetached retina was simultaneously recorded between the shorter tip and a scleral electrode. The amplitude of the TR-ERG b-wave significantly decreased 2 hours after the onset of the detachment, and was gradually reduced to minimal value until 96 hours after the detachment. The amplitude of the VERG b-wave remained unchanged. The slow P III amplitude of the TR-ERG gradually decreased and

別刷請求先：020 盛岡市内丸19-1 岩手医科大学眼科学教室 亀井 俊也
(平成3年10月15日受付, 平成3年12月11日改訂受理)

Reprint requests to: Shunya Kamei, M.D. Department of Ophthalmology, School of Medicine,
Iwate Medical University, 19-1 Uchimaru, Morioka 020, Japan

(Received October 15, 1991 and accepted in revised form December 11, 1991)

extinguished 96 hours after the detachment, while the c-wave amplitude of the VERG showed no significant changes. The results suggested that the viability of the detached retina reduces rapidly and extinguishes within 96 hours in the rabbit eye. (Acta Soc Ophthalmol Jpn 96:628-633, 1992)

Key words: Retinal detachment, ERG, Duration of detachment, Sodium hyaluronate, Rabbit

I 緒 言

神経網膜がその主たる栄養供給源である網膜色素上皮 (RPE) より剥離した場合の網膜機能の低下は剥離期間に応じて著しく低下することが推察される。この機能の低下は、剥離後早期では、RPE から神経網膜への栄養物質の不足による機能障害であり、後期では剥離網膜自体に生じる変性によると考えられ、剥離網膜の機能がどの程度残存しているかを知ることは手術の適応はもとより手術方法、術後の視機能の推定などに有用と思われる。

最近著者らは、生体動物眼に実験的に作成した剥離網膜より直接 ERG を記録する方法を開発し¹⁾、剥離後早期には RPE から剥離網膜へのロドプシンの輸送は比較的良好に保たれていること²⁾、また剥離の範囲が広く、高さが高いほど早期より剥離網膜の機能が低下していること³⁾を電気生理学的応答から推察した。しかしながら、剥離期間と剥離網膜の機能との関係についてはこの方法では調べられていない。

そこで今回は、剥離期間が網膜機能に及ぼす影響を検討する目的で、家兎に網膜剥離を実験的に作成した後、剥離網膜より ERG を経時的に記録したので報告する。

II 実験方法

1. 実験動物

体重 1.5~2.0 kg の有色家兎 36 匹 36 眼を用いた。被験眼に Mydrin P[®] および 1% アトロピンを点眼して極大散瞳した後、塩酸ケタミン (ケタラール[®], 30 mg/kg 筋注) とウレタン (0.5 g/kg 筋注および 0.5 g/kg 腹注) の併用による全身麻酔下で実験を行った。

2. 網膜剥離作成方法

家兎を実験台に固定後、Marmor ら⁴⁾の方法に準じて網膜剥離を作成した (図 1)。すなわち、瞬膜を切除し、結膜を輪部より切開剥離し、輪部より 1~2 mm 後方の強膜を 18 G の注射針の先端にて切開した。その後、ヒアルロン酸ナトリウム (科研製薬、分子量: 80~90 万, 10 mg/ml) を満たした直径 20~30 μm の先

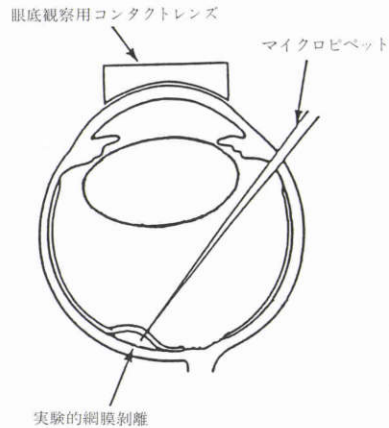


図 1 網膜剥離作成方法。

端を持つマイクロビベットを、強膜切開創より硝子体内へ刺入し、先端が視神経乳頭の外下方約 2 乳頭径の位置の網膜上に達したことを経瞳孔的に手術顕微鏡下で確認した後、ヒアルロン酸ナトリウムを 700 g/cm^2 の空気圧にて圧出しながら、マイクロマニピュレーター (ナリング社, MO-22) を用いてマイクロビベットを進めた。マイクロビベットの先端が網膜下腔に達した時、限局性の網膜剥離が形成されるが、その大きさを直径約 4 mm とした。網膜剥離作成時に眼圧の異常な変動は見られなかった。

3. ERG 記録方法

剥離網膜からの電気応答 (transretinal ERG: TR-ERG) の記録は、Mori ら²⁾の方法に準じた。すなわち、先端の外径が 10~15 μm で、他端の外径が 1 mm のガラス管内腔に 3 N-塩化カリウムを充填した後、銀-塩化銀線を挿入して導線とした。同様に作成した 2 本のガラス管を先端を約 5 mm ずらしてエポキシ系接着剤で接着して 2 筒型ガラス管電極を作成した。この電極を網膜剥離を作成した強膜創より眼内へ刺入し、その長端は剥離作成時の網膜孔より剥離網膜下腔に、短端は硝子体内に位置するように設置した。この長短の 2 電極間で剥離網膜からの TR-ERG を、また、同時に硝子体内の電極と角膜輪部 3 mm 後方の強膜上に置い

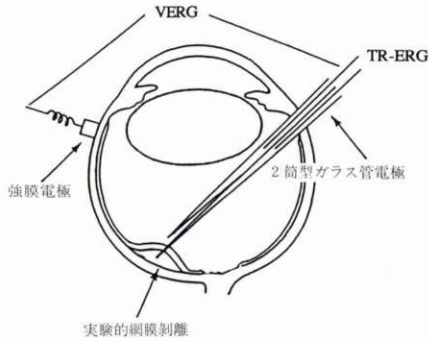


図2 ERGの記録方法。VERGは非剝離部網膜からの vitreal ERGを、TR-ERGは剝離網膜からの transretinal ERGをあらわす。

た直径約3mmの球形の銀—塩化銀電極との間で、非剝離部網膜からの電気応答(vitreal ERG: VERG)を記録した(図2)。250Wのハロゲンランプからの刺激光を直径6mm、長さ90cmのファイバーオプティクスで眼前3cmまで導き、角膜面上で4,000 luxに調光し、刺激持続時間を4秒、刺激間隔を5分とした。導かれたTR-ERGおよびVERGは、前置増幅器(日本光電社、MEZ-7101)を介して、早期成分であるb波は交流増幅器(日本光電社、AVB-21, high cut: 300 Hz, low cut: 0.5 Hz)で交流増幅後にオシロスコープ(日本光電社、VC-11)で、また、後期成分であるc波およびslow P IIIは直流増幅(日本光電社、AD-610 GおよびAD-641 G)したのち、ペンレコーダー(日本光電社、WT-645 G)で記録した。ERGの記録は剝離作成後30分、1、2、3、12、24、48、72および96時間の時点で、それぞれ暗順応を30分行った後に各4眼4回ずつ記録した。

III 結 果

網膜剝離作成の直後と96時間後の眼底写真を図3および図4に示した。96時間後では網膜剝離の範囲には変化はなかったが、網膜の透明性が失われていた。また、いずれの時点でも非剝離部網膜には検眼鏡的に異常はみられなかった。

剝離網膜から得られたTR-ERGおよび非剝離部網膜から得られたVERGのb波の実際の波形の代表例を図5に示した。関電極が網膜下腔に不関電極が硝子体腔内にあるために、TR-ERGのb波は陰性波として、slow P IIIは陽性波として記録される。TR-ERGのb波は経時的に減少傾向を示し、剝離後96時間で

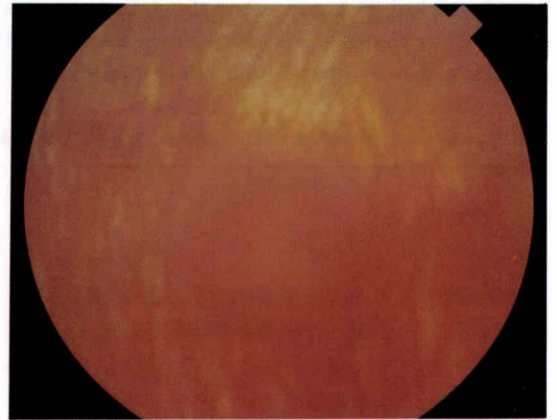


図3 限局性網膜剝離作成直後の眼底写真。

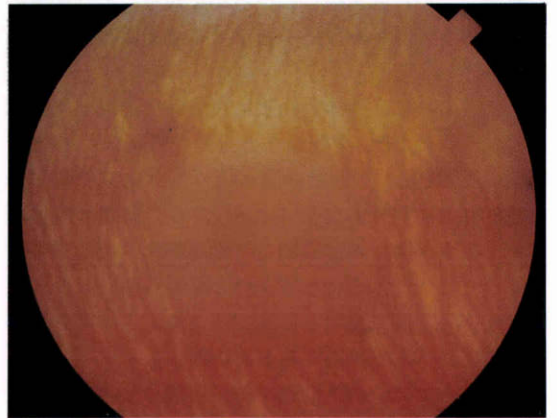


図4 限局性網膜剝離作成後4日目の眼底写真。

はほぼ消失していた。これに対してVERGのb波はほとんど変化を認めなかった。

各4眼のTR-ERGおよびVERGのb波の平均振幅の経時変化を図6に示した。TR-ERGのb波振幅は剝離後1時間では $68.0 \pm 15.8 \mu\text{V}$ (平均値 \pm 標準偏差、以下同じ)であったが、その後は減弱し、2、12、48、72および96時間後ではそれぞれ $51.3 \pm 7.3 \mu\text{V}$ ($p < 0.05$)、 31.5 ± 11.5 ($p < 0.01$)、 29.3 ± 13.8 ($p < 0.01$)、 13.5 ± 8.8 ($p < 0.01$)および $2.0 \pm 2.9 \mu\text{V}$ ($p < 0.01$)に低下し、剝離後1時間と比較していずれも有意に減弱していた。

一方、VERGのb波振幅は剝離作成後1、2、12、48、72および96時間の時点でそれぞれ 62.0 ± 5.7 、 64.8 ± 6.9 、 75.5 ± 15.5 、 53.8 ± 15.4 、 57.8 ± 9.0 および $56.5 \pm 9.0 \mu\text{V}$ であり、経過中に有意な変化は認め

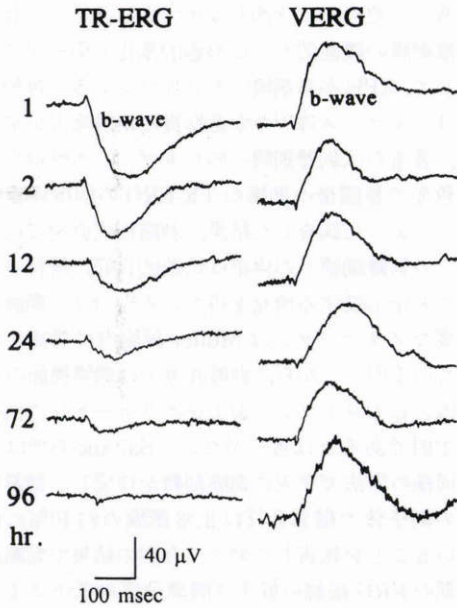


図5 網膜剥離作成後1~96時間のTR-ERGおよびVERGのb波波形。

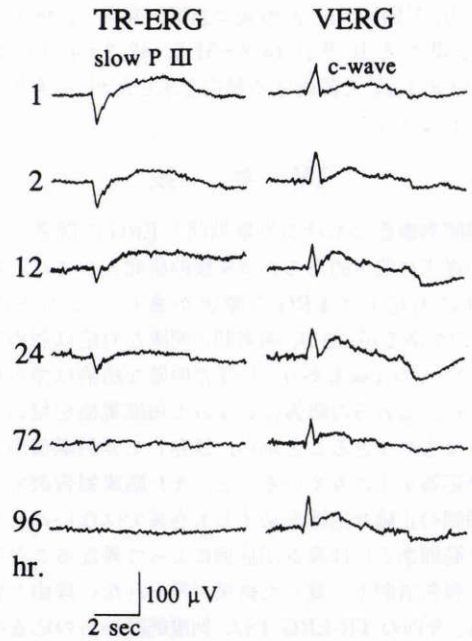


図7 網膜剥離作成後1~96時間のTR-ERG slow P IIIおよびVERG c波波形。

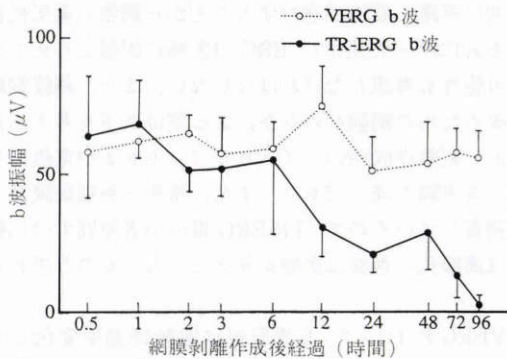


図6 網膜剥離作成後0.5~96時間のTR-ERGおよびVERGのb波振幅平均値および標準偏差の経時変化。

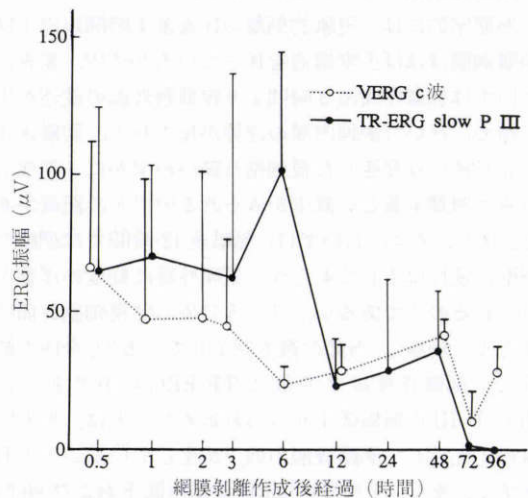


図8 網膜剥離作成後0.5~96時間のTR-ERG slow P IIIおよびVERG c波振幅平均値および標準偏差の経時変化。

られなかった。

ERG 後期成分として記録されたTR-ERGのslow P IIIおよびVERGのc波の実際の波形の代表例を図7に示した。TR-ERGのslow P IIIはb波と同様に剥離後経時的に減少し、96時間で消失した。VERGのc波は経時的に減弱する傾向を示した。

各4眼のTR-ERGのslow P IIIとVERGのc波平均振幅の経時変化を図8に示した。TR-ERGのslow P III振幅は剥離作製後1, 12, 48, 72および96時間

でそれぞれ 69.5 ± 33.5 , 23.0 ± 17.4 , 36.0 ± 21.6 , 0.3 ± 0.4 および $0 \mu V$ で、b波とはほぼ同様の経過で次第に減弱し、12時間以後には1時間後と比較してその減弱は有意 ($p < 0.05$) となり、72時間後にはslow P IIIの振幅はほとんど振幅を認められなくなった。

一方, VERGのc波振幅は剥離作成後1, 48および96時間でそれぞれ 46.8 ± 51.0 , 42.3 ± 4.9 および $29.0 \pm 8.1 \mu V$ と減弱する傾向を示したが, 有意差は認められなかった。

IV 考 按

網膜剥離眼における剥離期間とERGの関係についての従来の臨床的あるいは実験的研究としては, 剥離期間に対応してERGの障害が著しくなるとの報告^{5)~7)}があるが, 他方, 両者間に明瞭な対応は認められない⁸⁾⁹⁾との記載もあり, いまだ明確な結論は得られていない。これらの報告はいずれも角膜電極を用いて記録したものであることから, 残存した非剥離部からの網膜応答を主にみていること, また臨床報告例では剥離期間の正確な把握が必ずしも容易ではないことや剥離の範囲あるいは高さが症例によって異なることなどが, 報告者間で一致した結果が得られない理由と思われる。今回のTR-ERGでは, 剥離網膜からの応答のみをとらえている点および剥離の範囲や高さなどが一定である点で従来の報告より厳密に剥離期間とERGとの関係を観察し得ると考えられる。

形態学的には, 実験的剥離の作成後1時間以内では剥離網膜はほぼ正常構造を保っているが¹⁰⁾¹¹⁾, 家兎においては剥離作成後3時間より視細胞外節の変性が生じ始め, 次いで網膜内層の浮腫が起こり¹¹⁾, 剥離後4~5日後には変性した視細胞外節がわずかに一部残るのみで内節も著しい減少がみられる¹²⁾¹³⁾との記載がある。また, ネコにおいては, 剥離後12時間では網膜の細胞に変性は生じておらず, 網膜外層に軽度の浮腫がみられるのみであるが, 3~5日後には視細胞外節はほとんど崩壊し, 内節の数も減少している¹⁰⁾。今回の結果で, 剥離作成後2時間でTR-ERGのb波並びにslow P IIIの振幅低下がみられ始めたことは, 形態的变化に先行して網膜機能の低下が生じていることを意味する。また, その後のERG振幅の低下および96時間後でのERG波形の消失は, 網膜浮腫と視細胞外節を中心とした形態的变化に起因したものと考えられ¹²⁾¹³⁾, このような早期からの網膜機能の低下の一因は, 家兎網膜には血管分布が少ないことにあると思われる。しかしながら, 発生部位を異にするb波およびslow P IIIがともにほぼ同一の過程で変化したこと(図6, 8)は, 剥離網膜の変性の経過がその層によって異なること^{10)~13)}を考えあわせると, 両者の発生機序が同一の経過で傷害されたためではなく, 視細胞の障

害に基づく波形の二次的な変化であると考えられた。

剥離網膜の機能的および形態的变化を引き起こす原因として, RPEから網膜へのロドプシン等の視物質あるいはグルコース等¹⁴⁾の栄養物質の輸送障害が挙げられる。著者らは剥離網膜へのロドプシンの供給を, 強い白色光で暴露後の網膜のTR-ERGの回復過程をみることによって調査した結果, 剥離作成直後ではロドプシンの剥離網膜への供給は比較的良好に維持されていることを示唆する所見を得ている²⁾。また, 網膜代謝に必要なグリコーゲン¹⁵⁾はMüller細胞内に豊富に貯えられている¹⁵⁾ことから, 剥離直後では網膜機能の低下の原因としてロドプシンおよびグリコーゲンの供給不足が主因であるとは考えがたい。Sakaueら¹⁶⁾は著者らと同様の方法で家兎に網膜剥離を作成し, 剥離網膜直上の硝子体の酸素分圧は正常網膜の約10%に低下していることを報告しており, 今回の結果で剥離網膜の初期のERG振幅の低下は酸素分圧の低下による視細胞のナトリウム・カリウムのポンプ作用の低下あるいはカリウムイオンの膜透過性の異常¹⁷⁾に基因すると推察された。しかしながら, 剥離網膜では時間の経過と共に浮腫, 変性が進行することから網膜の電気抵抗もそれに伴って変化し, ERGの振幅に影響を与えている可能性も考慮しなければならない。また, 網膜剥離作成のための網膜孔の存在による電位低下も考えられるが, 剥離作成時のマイクロビットおよび電極の口径は各実験で同一であり, また, 電極と剥離網膜孔とは密着しているため, TR-ERG電位の各時間での比較には網膜孔の存在は影響を与えていないものと思われた。

VERGにおいて, b波振幅は実験経過中変化しなかったが, これはVERGが非剥離部網膜からの応答を主にとらえており, 剥離網膜の影響をほとんど受けていないことを意味すると考えられる。また, 著者らは急性の実験的網膜剥離眼のc波振幅が剥離直後より減弱し, 剥離範囲を上まわる障害を示すことを既に報告¹⁸⁾している。今回の実験においても有意差はみられなかったもののVERGのc波振幅が時間経過と共に減弱する傾向がみられたことは, 臨床研究で報告されているERGのc波⁶⁾, EOG light rise¹⁹⁾, 薬物誘発応答²⁰⁾などのRPEを主な発生源とする電気生理学的応答が, 網膜の剥離範囲を上まわる障害を示すことを支持するものであり, 実験的にも網膜剥離眼の非剥離部のRPEに何らかの異常が及ぶ可能性が示された。

今回, 網膜剥離の作成にあたっては, 長期間持続す

る実験的網膜剥離を得るために、ヒアルロン酸ナトリウムを用いた。ヒアルロン酸ナトリウムは裂孔原性網膜剥離における網膜下液に含まれており²¹⁾、また、剥離網膜の形態学的な変化に影響を及ぼさないと考えられている¹⁰⁾。さらに著者らは、剥離作成にハンクス液を用いた場合とヒアルロン酸ナトリウムを用いた場合との間に剥離網膜から得られたTR-ERG振幅には差がないことを確認している³⁾ことなどから、ヒアルロン酸ナトリウムの剥離網膜に対する影響はほとんどないと考えられる。

今回の実験によって、生体家兎の剥離部網膜の機能の経時的变化が、電気生理学的手法によって明らかとなった。しかし、剥離網膜の機能は剥離期間のみならず剥離の範囲や高さによっても差がみられる³⁾など、多くの因子によってさまざまに変化する。剥離網膜が維持している機能は、網膜復位後の機能的な回復を担う重要な因子と考えられ、今後、剥離網膜の病態を機能的な方向よりさらに検討することが、網膜剥離の治療や予後の推定などに役立つものと思われる。

文 献

- Mori T, Tsue TT, Marmor MF: Electrical responses from detached retina inside the intact rabbit eye. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 29: 1040—1043, 1988.
- Mori T, Pepperberg DR, Marmor MF: Dark adaptation in locally detached retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 31: 1259—1263, 1990.
- 森 敏郎, 亀井俊也, 菅原岳史, 他: 大きさの異なる実験的網膜剥離からのERG. *日眼会誌* 95: 1248—1251, 1991.
- Marmor MF, Adul-Rahim AS, Cohen DS: The effect of metabolic inhibitors on retinal adhesion and subretinal fluid resorption. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 19: 893—903, 1980.
- 都筑幸哉: ERGに現われる律動様小波の臨床的観察. 第II報. 網膜剥離を中心とした考察. *日眼会誌* 66: 69—77, 1962.
- 森 敏郎: 網膜剥離の電気生理学的研究, 特にERG, c波について. *日眼会誌* 86: 1772—1782, 1982.
- Foulds WS, Ikeda H: The effect of detachment of the retina on the induced and resting ocular potentials in the rabbit. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 5: 93—108, 1966.
- 玉井嗣彦: 人眼ERP (Early Receptor Potential)の臨床的研究. 第7報. 網膜剥離患者他眼(いわゆる健眼)のERP. *眼紀* 27: 334—336, 1976.
- 浅山亮二, 永田 誠, 今野信一, 他: 網膜剥離のERG. *臨眼* 11: 224—321, 1957.
- Anderson DH, Stern WH, Fisher SK, et al: Retinal detachment in the cat: The pigment epithelial-photoreceptor interface. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 24: 906—926, 1983.
- 中村周平: 実験的網膜剥離に関する研究. 形態学的研究. 第2報. 実験的網膜剥離についての観察補遺, 並びに網膜剥離復位後の観察成績. *日眼会誌* 71: 520—543, 1967.
- 稲原明肆: 実験的網膜剥離の剥離面の微細構造に関する研究. *日眼会誌* 77: 1002—1037, 1973.
- 大熊正人: 実験的家兎剥離網膜の透過型並びに走査型電子顕微鏡的観察. I. 剥離網膜初期の変化. *日眼会誌* 76: 303—311, 1972.
- Niemeyer G, Once S, Macaluso C: Glukose-Wirkung auf die Stäbchenfunktion im isolierten perfundierten Katzenauge. *Klin Mbl Augenhilk* 198: 406—407, 1991.
- 上野聡樹, 北岡 隆, 石郷岡均, 他: ミューラー細胞の最近の知見, ミューラー細胞の機能. *眼科* 32: 667—679, 1990.
- Sakaue H, Negi A, Honda Y: Comparative study of vitreous oxygen tension in human and rabbit eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 1933—1937, 1989.
- Ullrich A, Steinberg R, Baierl P, et al: Changes in extracellular potassium and calcium in rat cerebellar cortex related to local inhibition of sodium pump. *Pflügers Arch* 395: 108—114, 1982.
- 森 敏郎, 亀井俊也, 田澤 豊, 他: 実験的網膜剥離眼より記録されたERG c波. *日眼会誌* 94: 582—585, 1990.
- Black RK, Behrman J: The electrical activity of the eye in retinal detachment. *Trans Ophthalmol Soc Unit King* 89: 263—266, 1967.
- 真館幸子: 眼球常存電位におよぼす高浸透圧負荷の効果とその臨床応用. (III) 数種の眼底疾患における検討. *日眼会誌* 86: 396—413, 1982.
- 松田久美子: 網膜下液の粘度—成分および臨床所見との関係について—. *日眼会誌* 92: 611—618, 1988.