

ネコにおける眼電位図の測定

酒井 宏之¹⁾, 三井 幸彦²⁾¹⁾参天製薬株式会社開発研究所, ²⁾徳島大学医学部眼科学教室

要 約

著者らはネコを用いて麻酔下で片眼に連続幅約3.0 mmの水平方向の強制運動を加え、明および暗順応下で安定した眼電位図 (electrooculogram, EOG) を記録することができた。5匹5眼における測定値では基準電圧は580~1,800 μ V (平均1,312 μ V), 明極大電圧は825~2,660 μ V (平均1,881 μ V), 暗極小電圧は415~1,480 μ V (平均1,030 μ V), 明極大/暗極小比は1.70~1.99 (平均1.83) であった。本法によれば動物において安定したEOG記録が可能であり、実験的網膜色素上皮機能検

査法として有用である可能性が示された。特に最近問題になっているメラニン親和性が強いフルオロキノロン剤によって起こる恐れがあるメラニン障害発生の動物実験に有力な方法となり得ると考えられた。(日眼会誌 99: 659-662, 1995)

キーワード: ネコ, 眼電位図, 明極大/暗極小比(L/D比), 強制眼球運動, 網膜色素上皮

Measurement of Electrooculogram in the Cat

Hiroyuki Sakai¹⁾ and Yukihiko Mitsui²⁾¹⁾Developmental Research Laboratories, Santen Pharmaceutical Co. Ltd.²⁾Department of Ophthalmology, Tokushima University School of Medicine

Abstract

In humans, the light peak/dark trough ratio (L/D ratio or Arden ratio) of the electrooculogram (EOG) is conventionally used as an index to estimate the function of the retinal pigment epithelium, but it is rarely in animals. We obtained stable EOG recording in the cat under general anesthesia during light and dark adaptations by applying mechanical forced duction of approximately 3.0 mm in width to one eye of an animal. In five animals, voltages of the dark baseline, the light peak, and dark trough were 580~1,800 μ V (mean, 1,312 μ V), 825~2,660 μ V (mean, 1,881 μ V) and 415~1,480 μ V (mean, 1,030 μ V), respectively. The L/D ratio in the five animals was

1.70~1.99 (mean, 1.83), similar to that in humans. The present results suggest that the EOG recording by forced duction in experimental animals can be developed into another method to evaluate the retinal pigment epithelial function, particularly to evaluate its potential disorder induced by fluoroquinolones. (J Jpn Ophthalmol Soc 99: 659-662, 1995)

Key words: Cat, Electrooculogram, Light peak/dark trough ratio (L/D ratio), Forced duction, Retinal pigment epithelium

I 緒 言

動物に眼球運動をさせて眼電位図 (electrooculogram, EOG) を測定することは、吉田¹⁾, 小林²⁾, 今泉ら³⁾, Rubin⁴⁾らによる少数の報告があるが、一般にはあまり行われていないようである。特に明、暗順応下のEOGの明極大 (light peak) と暗極小 (dark trough) の振幅を測定し、後者に対する前者の比 (L/D比, または Arden

ratio⁵⁾) から、網膜色素上皮の機能を解析する技術は実験動物においては確立されているとはいえない。著者らはフルオロキノロン剤の網膜色素上皮に対する慢性影響を非破壊的に調べるには、ネコで網膜電図 (electroretinogram, ERG) c波のみならず、EOGのL/D比が指標として使えると考え、*in vivo*で強制眼球運動によるEOG計測法の妥当性を検討したので、その結果を報告する。

別刷請求先: 533 大阪府大阪市東淀川区下新庄3-9-19 参天製薬株式会社開発研究所 酒井 宏之
(平成6年6月16日受付, 平成7年1月17日改訂受理)

Reprint requests to: Hiroyuki Sakai, M.D. Developmental Research Laboratories, Santen Pharmaceutical Co. Ltd.
3-9-19 Shimoshinjo, Higashiyodogawa-ku, Osaka-shi, Osaka-fu 533, Japan.

(Received June 16, 1994 and accepted in revised form January 17, 1995)

ネコを対象として選んだ理由は次の通りである。キノロン剤の網膜毒性は tapetal animal (イヌ, ネコなど) に生じやすいことが知られている⁶⁾。また, その発生までには数年以上にわたる実験が必要であることが予測される⁷⁾。しかし, イヌは色素上皮機能の指標の1つである ERG c 波が陰性波であるといわれているので⁸⁾, 対象として使いにくい。実験動物として汎用されているウサギは ERG c 波は陽性波であるが, nontapetal animal であるうえ, ぶどう膜へのキノロン剤の蓄積が小さく⁹⁾, ネコより寿命が短いので, 上記の目的には不適當であろうと考えられたことなどにより, c 波が陽性波であるネコを対象動物に選んだ。

II 実験方法

1. 使用動物

体重 3.5~5.0 kg の雄ヨーロッパ系ネコ 5 匹 (日本クレア社, 東京) を, 明暗 12 時間サイクルの環境下で 3 か月飼育馴化後, 実験に供した。

2. 眼球運動法

動物では追視運動により眼球を運動させることはできないので, 強制運動によらなければならない。その方法にはいろいろあるが¹²⁾¹⁴⁾, Mitsui¹⁰⁾がヒトにおいて長時間最高 9 Hz までの安定した正弦波形の強制運動を実施し得た牽引装置を改変して使用した。

アトロピンによる前処置を施した後, 塩酸ケタミン (ケタラール®, 三共) 5.0 mg/kg 筋肉内注射および塩酸キシラジン (セラクター®, バイエル薬品) 2.0 mg/kg 皮下注射によって麻酔し, 固定器に固定した。眼瞼の内および外眼角部を剃毛し, 皮膚上に皮膚電極 (ピオロード M/S®, Sensor Medics, California USA) を電極糊 (バイオタッチ®, 日本電気三栄) で接着した。背部皮下に針電極を挿入し, 接地電極とした。ミドリン P® (参天製薬) を点眼して十分散瞳させた。塩酸オキシプロカイン (ベノキシル®, 参天製薬) の点眼による表面麻酔後, 角膜輪部から約 3.0 mm 離れた位置の強膜に縫合糸 3 本を縫着した (図 1)。外眼角側から牽引装置で約 1.0 Hz の強制運動を与えた。運動幅を 3.0 ± 0.5 mm に設定した。牽引装置の模式図を図 1 に示す。

3. EOG 記録法

生体信号処理装置 Synax ER-1100 型 (日本電気三栄) を用いて交流増幅 (low cut 0.02 Hz) で記録した。測定は 2~3 分間隔で約 10 秒間実施し, 明順応時の照度は角膜面で 100 lux に設定した。片眼の眼球運動であるためクロストーク消去法¹⁰⁾は用いなかった。EOG Standardization Committee は明順応をした後に暗順応—明順応の順で測定することを勧めているが¹¹⁾, 動物の場合には暗順応中にも強制運動が適正に作動しているかどうかを監視する必要があるので, 前暗順応を約 40 分間施行した後, 明順応—暗順応—明順応の順で少なくとも 3 回以上

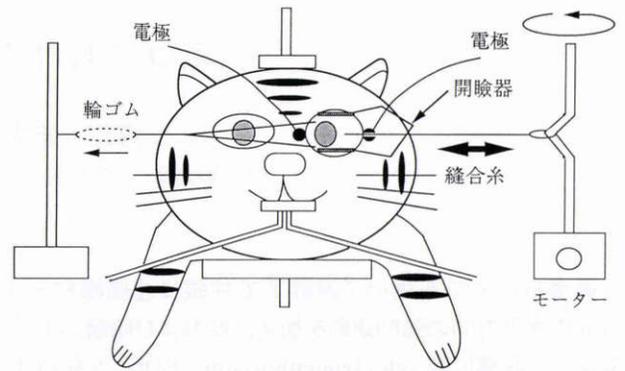


図 1 ネコにおける眼電位図測定のための強制眼球運動装置および電極設置部位の模式図。

測定した。そして, 前後 2 回の明順応下での運動が記録紙上で適正であったと判断された場合に, その中間の暗順応時でも適正に運動したものと判断し, 第 1 回の明および暗順応時の記録値をデータとして採用した。予備試験の結果, ネコでは基準電圧から基準電圧に戻るには, 明順応下でも, 暗順応下でもともに約 30~40 分かかることがわかったので, 明・暗・明の切り替えはこの時間帯の境界で記録をモニターしながら基準電圧に戻ったと思われる時点でいった。

4. 解析方法

記録された電位は, 経時的にグラフ上にプロットし, 臨床で機能評価の指標として用いられている L/D 比を算出した。

III 測定結果

測定した 1 例 (表 1 の No. 3) の EOG 時間曲線を図 2 に示す。前暗順応の末期から測定を開始したが, この時の電圧 (基準電圧) は $1,720 \mu\text{V}$ であった。第 1 回の明順応で電圧は最高 $2,660 \mu\text{V}$ (明極大) に達した後, 次第に降下した。次いで, 暗順応に移ると降下を続け, 最低 $1,480 \mu\text{V}$ (暗極小) に達したのち, 上昇をはじめた。L/D 比は 1.80 と計算された。第 2 回目の明順応でも, 強制運動装置が適正に作動していたことが認められた。明順応開始から暗極大到達までの時間 (明極大潜時) は約 16 分, 以下基準線まで降下する時間は約 4 分, 暗順応開始

表 1 ネコにおける眼電位図計測結果一覧表

動物 No.	基準電圧 (μV)	明極大電圧 (μV)	暗極小電圧 (μV)	L/D 比
1	1,240	1,780	923	1.93
2	580	825	415	1.99
3	1,720	2,660	1,480	1.80
4	1,220	1,630	855	1.91
5	1,800	2,510	1,480	1.70
平均	1,312	1,881	1,030	1.83

L/D 比: 明極大/暗極小—比
眼球運動は, 振幅約 3.0 mm の水平強制運動による

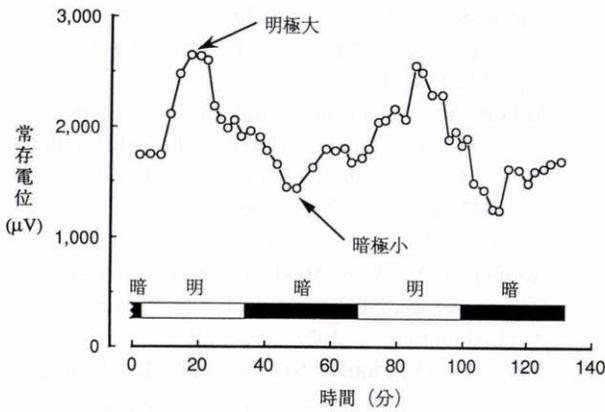


図 2 ネコにおける眼電位図時間曲線例 (表 1, No. 3).

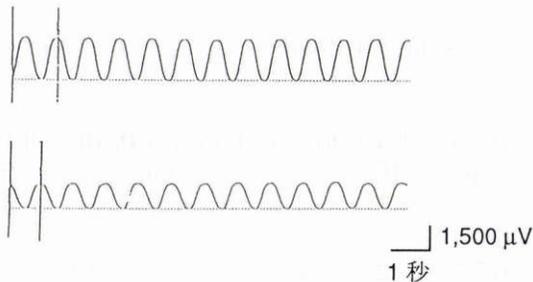


図 3 図 2 の明極大 (上), 暗極小 (下) における眼電位図波形.

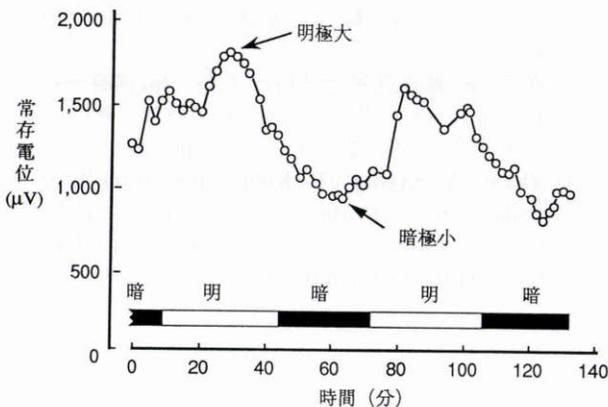


図 4 ネコにおける眼電位図時間曲線例 (表 1, No. 4).

から暗極小まで約 15 分, 基準線まで上昇する時間は約 20 分であった. 図 3 に, この例の明極大および暗極小を示した時の EOG の実波形を示す.

図 4 に他の 1 例 (表 1 の No. 4) の EOG 時間曲線を示す. この例では基準電圧が $1,220 \mu\text{V}$, 明極大 $1,630 \mu\text{V}$, 暗極小 $855 \mu\text{V}$, L/D 比は 1.91, 明極大潜時は約 20 分と計算された. 第 2 回目の明順応以降の記録も装置が適正に作動していたことを示した. 図 5 に, この例の明極大および暗極小を示した時の EOG の実波形を示す.

測定した 5 例の基準電圧, 明極大電圧, 暗極小電圧, および L/D 比を表 1 に一括して示す.

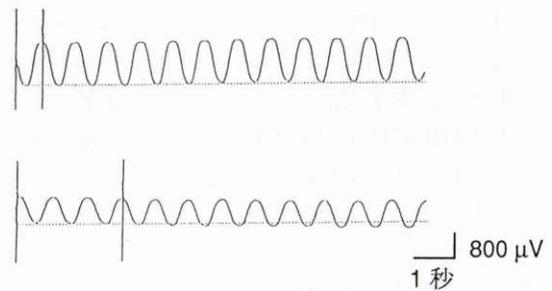


図 5 図 4 の明極大 (上), 暗極小 (下) における眼電位図波形.

IV 考 按

電気生理学的検査は定量的な評価が非侵襲的に得られるので, 網膜機能の検査には有力な手法である. 網膜色素上皮の機能の変化を推測するには, EOG や ERG の c 波の検査が有効な手段になり, 臨床的に多用されている. 実験動物でも EOG の測定ができれば有効な手段であるが, 従来あまり使用されていない.

著者らはネコで片眼の強制眼球運動を行わせ, 明, 暗順応下で EOG 振幅の明極大と暗極小とを記録することができた. 測定は安定して実施でき, 運動幅を約 3.0 mm とした場合, 基準電圧は概ね $1,000 \mu\text{V}$ を越え, L/D 比は 1.70~1.99, 平均 1.83 であった. ヒトの場合には L/D 比は 1.80 以上が正常と見なされるので¹²⁾, ネコの L/D 比の正常域もこれに近いと考えられる.

EOG の電圧は眼球運動の振幅にほぼ比例する. ヒトでは追視運動によって眼球運動を行わせるので, 同一人で反復して測定しても運動幅を一定に保てる. 動物では強制運動によって行わせるが, 装置が弾性体部分を含む構造なので, その装着効果を毎回同一にすることは難しい. 今回の結果を見ても (表 3) 電圧の絶対値は症例によって約 3 倍の開きがあるのに反し, L/D 比はほぼ斉一の範囲にある. 絶対値の開きの理由は今回の実験結果から推定することは難しいが, 絶対値は参考とするに止め, L/D 比の変動を主たる解析対象にするのが妥当であろう. 色素上皮の機能の電気生理学的検討法には, ERG の c 波の測定, またはいわゆる直接法による測定¹⁸⁾¹⁹⁾などがあるが, EOG の L/D 比の測定も動物において有用な手段として使用し得ると考えられる.

現在メラニン親和性の強い薬剤による眼障害が問題になっている¹³⁾. その発端はクロロキン網膜症であるが, 剖検例では網膜色素上皮の崩壊が発生機序であることが示唆されている¹⁴⁾. 動物実験ではメラニン親和性が強い薬剤によるメラニン障害 (網膜色素上皮の障害) の発生は証明されていない¹⁵⁾が, その理由は投与期間が数週間であつた. このような障害を惹起するには短かすぎるためと思われる. 最近フルオロキノロン剤は強いメラニン親和性を有することが証明され¹⁶⁾, 本剤が汎用性であることから, メ

ラニン障害発生の可能性に注意を要することが指摘されている⁹⁾。本剤の動物における1年以上の長期の安全性実験の中には、臨床的にヒトのクロロキン網膜症に類似を求め得る眼底所見が記載されているが¹⁷⁾、電気生理学的、組織学的な検討を欠いている。メラニン親和性由来する障害の発生を早期に推測するためには、まず非侵襲的な電気生理学的検査を実施することが望まれる。今回の動物におけるEOG実施法の検討は、この実験に適用することを目的として行われたもので、上記の目的に十分添うものと考えられる。

文 献

- 1) 吉田玄雄：ヨード酸ソーダ投与家兎眼におけるEOG, 日眼会誌 69: 1249—1262, 1965.
- 2) 小林清敏：L-グルタミン酸ソーダ投与による実験的網膜変化におけるERGおよびEOGの観察, 日眼会誌 71: 1458—1465, 1967.
- 3) 今泉竜撤, 高橋利兵衛, 高橋文郎, 吉田玄雄, 猪股孝四郎, 小川健次：明順応EOG曲線に於ける過渡現象の解析, 日眼会誌 72: 1512—1517, 1968.
- 4) Rubin LF: Atlas of Veterinary Ophthalmology, Lea & Febiger, Philadelphia 32—33, 1974.
- 5) Arden GB, Barrada A, Kelsey JH: New clinical test of retinal function based upon the standing potential of the eye. Br J Ophthalmol 46: 449—467, 1962.
- 6) 原田喜男, 花房友行：Cinoxacinおよび関連化学療法剤による網膜毒性の動物種差について, 国際眼研究会議 Proceeding, Osaka, 106—107, 1979.
- 7) Burns RP: Delayed onset of chloroquine retinopathy. N Engl J Med 275: 693—696, 1966.
- 8) 輪島良平：硝子体手術の網膜への影響に関する研究 I. イヌ網膜電図 (electro-retinogram) の基礎的研究—網膜機能評価のための新しい実験モデル—, 金沢大学十全医学会雑誌 100: 352—372, 1991.
- 9) 三井幸彦, 大久保秀夫, 小室正勝：ノルフロキサシン (NFLX) の有色動物における眼内動態, Chemotherapy 42: 413—420, 1994.
- 10) Mitsui Y: Strabismus and the sensorimotor reflex. Excerpta Medica, Current Clinical Practice Series 30. Amsterdam, 99 and 200—203, 1986.
- 11) 森 敏郎：臨床視覚電気生理検査のこつとデータの読み方, EOGを中心に, 眼紀 44: 525—531, 1993.
- 12) Keunen JEE, Van Meel GJ, Van Norren D: Rod densitometry in congenital night blindness. Applied Optics 27: 1050—1056, 1988.
- 13) Ullberg S, Lindquist NG, Dencker L (小河秀正訳)：メラニンと薬物の副作用, 眼, 内耳, および脳幹部に発現する薬物誘起性病変, その共通的な成因としてのメラニン親和性, Pure Chemicals Daiichi 3: 50—58, 1977.
- 14) Bernstein NH, Ginsberg J: The pathology of chloroquine retinopathy. Arch Ophthalmol 71: 238—245, 1964.
- 15) Rosenthal AR, Kolb H, Bergsma D, Huxsoll D, Hopkins JL: Chloroquine retinopathy in the rhesus monkey. Invest Ophthalmol Vis Sci 17: 1158—1178, 1978.
- 16) 福田正道, 佐々木一之：化学療法剤の眼内移行動態におけるメラニンの関与, 日眼会誌 92: 1839—1843, 1988.
- 17) 入倉 勉, 杉本 勉, 今井 繁, 池田岳雄, 棚瀬裕文, 神田和実：AM-715の毒性学的研究, 第5報, イヌにおける慢性毒性試験, Chemotherapy 29: 849—885, 1981.
- 18) 西村 彰, 輪島良平, 金子敏行, 白尾 裕, 河崎一夫：Fluorosilicone oilによる硝子体腔置換の網膜へ及ぼす影響, 日眼会誌 41: 2263—2268, 1990.
- 19) Thaler A, Snyder JE, Kolder HE, Hayreh SS: Oscillations of the electroretinogram and electrooculogram in experimental ischemic retinopathy. Ophthalmic Res 10: 283—289, 1978.