

Effects of Vitreous Surgery on the Retina I . Basic Study of the Canine ERG-a New Methodology to Estimate Retinal Integrity

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8267

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 (electroretinogram) の基礎的研究

—網膜機能評価のための新しい実験モデル—

金沢大学医学部眼科学講座 (主任: 河崎一夫教授)

輪 島 良 平

(平成3年3月2日受付)

イヌにおいて網膜の電気的応答を指標として硝子体切除術や眼内使用物質の網膜への影響を調べる目的で正常なイヌ網膜電図 (electroretinogram, ERG) および眼球常存電位の薬物誘発応答について調べた。ビーグルイヌ2頭と雑種イヌ33頭を用いた。ERG および薬物誘発応答を記録する際に気管内挿管を施し筋弛緩剤 (ミオブロック[®]) を用いてイヌを不動化することにより安定した記録を長期にわたり反復して行うことが可能であった。イヌにおいてa波, b波, 律動様小波 (oscillatory potential, OP), 明上昇を記録することができたが, イヌ ERG にはc波は観察されず, 代わりに同様の時間経過で角膜側陰性の緩徐な波が記録され, 著者はこの角膜側陰性の波を緩徐陰性波 (slow negative potential, SNP) と命名した。SNP は本編の成績より主に角膜側陰性の Müller 細胞由来のスロー PIII (slow PIII) と角膜側陽性の網膜色素上皮層 (retinal pigment epithelium, RPE) 由来のc波 (RPE c波) より構成され, 角膜側陰性のスロー PIII 振幅が角膜側陽性の RPE c波振幅を凌駕しているため ERG 上では両者の和として角膜側陰性の波である SNP が記録されることが判明した。スロー PIII 振幅が RPE c波振幅を凌駕しているため SNP 振幅の変化は RPE c波振幅の変化に比べスロー PIII 振幅の変化をより大きく反映すると考えられ, またスロー PIII は Müller 細胞由来と考えられているため SNP を Müller 細胞機能の指標として用いることが可能である。イヌにおいて高浸透圧剤 (フルクトマニト[®]) を 10ml/kg/15min で静注すると眼球常存電位 (standing potential, SP) が減少し, イヌにおいても高浸透圧応答の存在が確認された。イヌにおいてアセタゾラマイド (ダイアモックス[®]) 25mg/kg を静注したが, SP の一定した変化は観察されなかった。また1.4%炭酸水素ナトリウムを 0.56ml/min/kg で静注したが, SP は変化しなかった。すなわちイヌにおいてダイアモックス応答および炭酸水素ナトリウム応答は記録されなかった。本編のイヌ実験モデルを用いることにより ERG のうち速い成分である a波, b波, OP のみならず比較的緩徐な電気的応答である SNP や極めて緩徐な電気的応答である明上昇および高浸透圧応答までも長期にわたり反復して記録することが可能となり, これらの電気的応答を指標とすることにより網膜機能を層別に検査することが可能になった。

Key words electroretinogram, dog, c-wave, standing potential, hyperosmolarity response

重篤な網膜硝子体疾患に対し硝子体内に挿入した手術器具を用いて直接これを治療する手術方法 (硝子体手術) は, Machemer ら¹⁾によるクロズドピトレク

トミーの開発を契機に急速に発展してきた。この手術方法は現在では硝子体混濁, 重症糖尿病性網膜症, 重症網膜剝離, 眼外傷, 眼内炎などの種々の網膜硝子体

Abbreviations: ERG, electroretinogram; OP, oscillatory potential; RPE, retinal pigment epithelium; SNP, slow negative potential; SP, standing potential; 筋注, 筋肉内注射; 静注, 静脈内注射

疾患において応用されている。さらに硝子体手術の効果を高める目的で眼内レーザー光凝固や眼内において短期または長期に使用する物質すなわち眼内充填用気体、眼内投与治療薬剤（たとえば抗生剤、抗ウイルス剤、ステロイドなど）、代用硝子体などの新しい手術方法や眼内使用物質が現在なお開発され臨床応用されている。しかしながら硝子体手術方法や眼内使用物質の開発と臨床応用の進展とはうらはらに、これらの眼組織への安全性を裏付ける基礎的研究は十分とはいえない。硝子体手術自体および眼内使用物質が眼組織とくに網膜へ与える影響を検討することは極めて重要であり、将来の硝子体手術手技および硝子体内薬物療法 (intravitreal drug therapy)⁹⁾の改善および発展に大きく寄与すると期待される。

著者は硝子体手術および眼内で使用される薬剤を実際の臨床と同様の方法で実験動物に適用し、これらの手術操作および薬剤の網膜への影響を電気生理学的に評価することを目的としてイヌを用いた新しい実験モデルを本研究においてまず提唱したい。網膜への影響を評価する手段として電気生理学的方法を用いた理由はこの方法が眼に侵襲を与えず長期にわたり反復して網膜の機能を追跡する方法として非常に優れているからである。実験動物として本研究でイヌを用いた理由を以下に述べる。まずこの実験に要求される実験動物の条件として、1) 眼が手術可能な大きさである、2) 従順で扱いやすい、3) 反復の全身麻酔に耐え得る強靱な動物である、4) 反復して人工呼吸を行うために経口気管挿管が可能である、5) 入手が容易である、6) 網膜に関する電気生理学的基礎研究が豊富であることが挙げられる。網膜の電気生理学的研究で頻用される動物として、ウサギ、ネコ、カエルなどがある。しかしウサギでは経口気管挿管が困難であり、ネコは実験途中で死亡する場合もありやや強靱さに欠ける。カエルでは眼球が小さく硝子体手術には適さない。イヌは上記1)～5)の条件を満たすが、6)の網膜に関する電気生理学的基礎研究に乏しい。そこで著者は第1編においてまずイヌの網膜電図 (electroretinogram, ERG) および眼球常存電位の薬物誘発応答に関する研究を行った。

1911年 Piper⁹⁾が最初にイヌ ERG について記載した。イヌ ERG に関する報告はその後散見されるにすぎない^{4),6)}。本編ではすでにヒトにおいて広く臨床応用されている ERG a 波、b 波、律動様小波 (oscillatory potential, OP) をはじめ主に網膜色素上皮層 (retinal pigment epithelium, RPE) に由来する c 波⁷⁾および明上昇^{8),9)}に関してイヌにおいて検討し、イ

ヌにおけるこれらの光誘発応答の正常波形を決定する。

眼球の前極と後極の間には角膜側陽性の電位差が存在し、この電位差は一般に眼球常存電位 (standing potential, SP) と呼ばれ、その主な発生母体は RPE とされている¹⁰⁾。SP は光刺激のみならずある種の薬物負荷刺激によっても変化する^{10),13)}。この変化を計測することにより RPE の機能を検査することが可能である。SP を変化させしかも臨床使用可能な薬物として当教室で高浸透圧剤、アセタゾラマイドおよび炭酸水素ナトリウムを報告し、各薬物による SP 変化をそれぞれ高浸透圧応答¹⁰⁾、ダイアモックス応答¹¹⁾ および炭酸水素ナトリウム応答^{12),13)}と名付けた。本編ではイヌにおいて高浸透圧応答、ダイアモックス応答および炭酸水素ナトリウム応答が存在するか否か調べ、これらの薬物誘発応答をイヌにおける RPE 機能検査に用いできるか否かについても検討する。

材料および方法

ビーグルイヌ 2 頭 (体重 10, 9 kg) および雑種イヌ 33 頭 (体重 5～8 kg) を用いた。麻酔および不動化の方法は以下の通りである。塩酸ケタミン 10～20mg/kg (ケタラル[®], 三共, 東京) および硫酸アトロピン 0.5 mg (田辺製薬, 大阪) の筋肉内注射 (筋注) 後、橈側皮静脈、小伏在静脈または大腿静脈より静脈路を確保し臭化パンクロニウム (ミオブロック[®], Organon, Oss, オランダ) 初回投与量 0.04mg/kg の静脈内注射 (静注) により不動化し、直ちに経口気管挿管を行った。気管挿管されたイヌは ERG 記録用固定装置 (著者考案) に腹臥位に固定され、人工呼吸器 (661型, Harvard Apparatus, South Natick, Mass., 米国) に接続された。持続輸液装置 (テルフュージョン輸液ポンプ, STC-503, テルモ, 東京) により 20ml/hr の速度で乳酸加リンゲル (ラクテック[®], 大塚製薬, 東京) が上記の静脈路を介して持続的に輸液された。臭化パンクロニウム 0.02mg/kg/30min の静注により不動化を維持した。実験中には心電図を持続的に監視し、また呼気中の O₂ および CO₂ 濃度を呼気ガス分析器 (IHO6, 三栄測器, 東京) により計測し、それぞれ 16%, 4～5% となるよう人工呼吸器の 1 回換気量を 10～15ml/kg, 呼吸数を毎分 30～40 回に調節した。実験終了後に自発呼吸が回復したことを確認して被験動物を動物舎へ戻し、後日の反復使用に備えた。

I. 矩形波刺激光による ERG の記録方法

雑種イヌ 5 頭 10 眼およびビーグルイヌ 1 頭 2 眼を用いた。電極には亜鉛・硫酸亜鉛不分極電極を用い、関

電極を両眼角膜輪部に、両眼共通の不閃電極を頭頂部皮膚(イニオンより2.0~2.5cm前方)に置き、口腔内に接地電極を置いた。瞳孔を1%硫酸アトロピンの点眼により散大した。角膜の乾燥を防ぐため無色透明のソフトコンタクトレンズ(HOYA SOFT/M^R, 保谷レンズ, 東京)または中央に直径6mmの透明部(人工瞳孔)を有する直径16mmの黒色コンタクトレンズ(以下、人工瞳孔付きコンタクトレンズ)(京都コンタクトレンズ, 京都)を角膜上に置いた。刺激光の光源には500Wキセノンアーク燈(三双製作所, 東京)を使用した。刺激光はY字型硝子繊維束で導かれ、硝子繊維束射出端(直径4mm)から両眼に照射された。白色の光散乱板を硝子繊維束射出端と両眼角膜の間で角膜の前方2cmの位置に置いた。電磁シャッターをY字型硝子繊維束の光射入端の直前に置き、電気刺激装置(SEN-3201, 日本光電, 東京)によりこの電磁シャッターを開閉して矩形波刺激光を発生させた。本装置における矩形波刺激光の上昇時間(シャッターが最大光強度の90%に開くまでに要する時間)と下降時間(シャッターが最大光強度の10%に閉じるまでに要する時間)は真空光電管(5653, RCA, Harrison, Penn., 米国)による測定の結果、いずれも約2ミリ秒であった。得られた電位変化は直流増幅器(0~200Hz)(RDU-5, 日本光電)により増幅され、磁気テープレコーダー(0~2000Hz)(NFR-3515, ソニー, 東京)に記録された。後日この磁気テープから再生された電位変化は誘発応答加算装置(ATAC 350, 日本光電)に記録された後に、X-Yプロッター(WX4401, 渡辺測器, 東京)またはペンレコーダー(SP-G6P, 理研電子, 東京)により描記された。

II. 閃光刺激による ERG の記録方法

雑種イヌ10頭20眼を用いた。電極とその位置、瞳孔の状態および角膜の保護法は上記Iと同様である。

両眼前30cmの位置に置いたキセノン閃光放電管(FT-100, 東芝, 東京)により両眼同時に光刺激した。キセノン閃光放電管への入力エネルギーは実験により0.3, 0.6, 2.0, 20, 40ジュールと使い分けられた。得られた電位変化は交流増幅器(時定数2.0秒または3ミリ秒)(AB-622M, 日本光電)により、また一部の実験では直流増幅器(0~200Hz)(RDU-5, 日本光電)により増幅され、磁気テープレコーダー(0~2000Hz)(NFR-3515, ソニー)に一旦記録され、後日にIと同様の方法で再生された。

III. 明上昇の記録方法

雑種イヌ17頭34眼およびビーグルイヌ2頭4眼を用いた。電極とその位置、瞳孔の状態、角膜の保護法、

光刺激の装置、増幅器および記録の保存法はIと同様である。30分以上の暗順応を行いSPが安定した後、刺激光強度100 lux, 持続時間10分の光刺激を与え、SPの変化を記録した。

IV. 薬物誘発応答の記録方法

電極とその位置、瞳孔の状態、角膜の保護法、増幅器および記録の保存法はIと同様である。使用した27頭すべてのイヌにおいてあらかじめ正常なERG応答が得られることを確かめた。30分以上の暗順応を行いSPが安定した後、以下の三種の薬剤を静注し、三種の薬物誘発応答を記録した。

1. 高浸透圧応答

雑種イヌ17頭34眼およびビーグルイヌ2頭4眼を用いた。あらかじめ確保した静脈路より持続輸液装置(STC-503, テルモ)を用いてフルクトマニト^R(10%フルクトース, 15%マンニトール, 大鵬薬品, 大阪)7.5~10ml/kgを15分間¹⁴⁾で静注し、SPの変化を調べた。この静注量は臨床使用の最大量¹⁴⁾に相当する。

2. ダイアモックス応答

雑種イヌ3頭6眼およびビーグルイヌ2頭4眼を用いた。麻酔に要した塩酸ケタミンの量は10~14mg/kgであった。また塩酸ケタミン筋注後2時間以上経過した後にダイアモックス応答を記録した。あらかじめ確保した静脈路よりアセタゾラマイド(ダイアモックス^R, 日本レダリー, 東京)25mg/kg¹⁵⁾を注射器により30~60秒で静注し、SPの変化を調べた。

3. 炭酸水素ナトリウム応答

雑種イヌ3頭6眼を用いた。7%炭酸水素ナトリウム(メイロン^R, 大塚製薬)を蒸留水で希釈し1.4%炭酸水素ナトリウム(浸透圧 0.30×10^3 mOsm)とした溶液をあらかじめ確保した静脈路より持続輸液装置(STC-503, テルモ)を用いて静注し、SPの変化を調べた。1頭においてはまずラクテック^Rを0.56ml/min/kg¹⁶⁾で3分間静注し、次いで1.4%炭酸水素ナトリウムを上記と同一の速度で6分間静注し、その後再びラクテック^Rを上記と同一の速度で静注した。また他の2頭においてはラクテック^Rを20ml/hrで持続輸液し、次に1.4%炭酸水素ナトリウムを0.56ml/min/kgで11分間静注し、SPの変化を調べた。

V. 緩徐陰性波 (slow negative potential, SNP) の検討

ネコやカエルではb波下降脚に続く角膜側陽性のc波が観察されるが、イヌではc波は観察されず、代わりにc波と時間経過がほぼ同一で極性が反対の角膜側陰性の波が観察される(図1)。著者は以下ではこの角膜側陰性の波を緩徐陰性波(slow negative potential,

SNP) と呼称する。

1. ヨウ素酸ナトリウム静注

ヨウ素酸ナトリウムを下記のように投与することにより RPE 由来の c 波 (RPE c 波) を消失させ¹⁰⁾、この状態での SNP の変化を観察することにより間接的に RPE c 波の波形を推測した。

雑種イヌ 7 頭 14 眼を用いた。電極とその位置、瞳孔の状態、増幅器および記録の保存法は I と同様であるが、角膜の保護には無色透明のソフトコンタクトレンズのみを使用した。

30 分以上の暗順応の後に III と同様の方法 (刺激光強度 100 lux, 持続時間 10 分) で明上昇を記録し、正常な明上昇が記録されることを確認した。再び 30 分以上の暗順応を行い SP を記録しながら刺激光強度 1 lux, 持続時間 5 秒の矩形波刺激光を 5 分間に 1 回の頻度で反復して与えて ERG を記録し、正常な ERG 応答が得られることを確認した。刺激光強度 1 lux, 持続時間 5 秒, 5 分間に 1 回の光刺激では明上昇は発生せず, SP の基線は安定していた。b 波および SNP 振幅が一定となった後、ヨウ素酸ナトリウム (和光純薬, 大阪) 25mg/kg を 1 頭, 50mg/kg を 4 頭, 70mg/kg を 2 頭 (いずれも雑種イヌ) において静注した。その後も反復して同様の光刺激を繰り返して行った。ヨウ素酸ナトリウム静注後 1~2 時間に再び明上昇 (刺激光強度 100 lux, 持続時間 10 分) を記録した。

2. 明上昇中の SNP の変化

雑種イヌ 2 頭 4 眼を用いた。電極とその位置、瞳孔の状態、増幅器および記録の保存法は I と同様であるが、角膜の保護には人工瞳孔付きコンタクトレンズを用いた。

30 分以上の暗順応を行い SP が安定したことを確認した後に、刺激光強度 100 lux, 持続時間 6 秒の矩形波刺激光を 30 秒に 1 回の頻度で反復して与え、SP および SNP の変化を同時に記録した。

3. 水晶体・硝子体切除術後の SNP の変化

雑種イヌ 4 頭およびビーグルイヌ 1 頭を用いた。水晶体・硝子体切除術の方法は第 II 編¹¹⁾ に詳述された。ERG および高浸透圧応答の記録方法は I および IV と同様である。角膜の保護には人工瞳孔付きコンタクトレンズを用いた。術前および術後 7, 21, 42 および 63 日に ERG および高浸透圧応答を記録した。

4. PII 成分の SNP への関与

雑種イヌ 2 頭を用いた。硝子体内注入された薬物を迅速に網膜に作用させることおよび硝子体内注入操作によって混濁する可能性のある水晶体をあらかじめ除去しておくことを目的として、用いたイヌには水晶

体・硝子体切除術を本実験の 3 か月前に施した。第 II 編¹¹⁾ で報告するように、水晶体・硝子体切除術後約 9 週で ERG の波形と振幅は水晶体・硝子体切除術前の状態にほぼ回復する。

ERG 記録方法は I と概ね同様である。異なる点はイヌを仰臥位に固定したことおよび一定した瞳孔面積を得る目的で散瞳に以下の方法を用いたことである。10-0 針付きナイロン糸の針の後端を持針器で把持したまま角膜輪部より針を前房中へ刺入し、虹彩の瞳孔縁付近を貫通した。次に針先が上記の刺入部近傍の角膜輪部へ向くように持針器を回転させ、針を再び角膜輪部から眼外へ刺出した。同様の操作を角膜輪部の計 4 箇所に行い、ナイロン糸を結紮し散瞳状態を得た。

オペガード MA^R (NaCl 112.90, KCl 4.83, CaCl₂ 1.23, MgSO₄ 1.22, NaHCO₃ 25.00, Na citrate 3.4, Na acetate 4.41, glucose 8.33mM, 298 mOsm, pH 7.3) (千寿製薬, 大阪) で溶解したグルタミン酸ナトリウム (和光純薬) 0.2ml を角膜輪部より硝子体の中央部に先端部を刺入した 27 ゲージ注射針によって硝子体内に注入し、次にこの注射針を前房まで引き抜き 0.2ml の前房水を吸引排除した。グルタミン酸ナトリウムのオペガード MA^R 中の濃度の決定に際し、角膜径のほぼ等しい他のイヌの摘出眼球を参考にして前房硝子体の容積を推定し、グルタミン酸ナトリウムが完全に前房硝子体中に拡散したと仮定して約 45mM の濃度となるように、約 25.3mg のグルタミン酸ナトリウムをオペガード MA^R 0.2ml に溶解した。グルタミン酸ナトリウム注入後約 40 分にヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg を静注した。

成 績

I. 矩形波刺激光による ERG

図 1 および図 2 に矩形波刺激光の強度を変えて記録した ERG を示す。図 2 には図 1 の起始部を速い掃引速度で再生した波形を示す。1.0×10⁻³ lux では角膜側陰性の潜時 76 ミリ秒の小さな振れがみられた。刺激光強度を増すとこの陰性の振れより遅れて角膜側陽性の波 (b 波) が出現した。5.0×10⁻¹ lux を越える刺激光強度では b 波に続く角膜側陰性の大きな緩徐な波が出現した (図 1)。前述のように著者はこの角膜側陰性を SNP と呼ぶことにする。以下では基線から SNP の最も深いところまでの電位差を SNP 振幅とする。

刺激光強度を順次強めると 1.0×10⁻¹ lux で刺激光の遮断に対応して下向きの応答が出現しはじめ、5.0×10⁻¹ lux でその振幅は最大となったが、5.0×10⁻¹

lux を越えると小さくなり 1.0×10^2 lux では観察し難くなった (図 1). 5.0×10^{-1} lux 以上の刺激光強度では上記の下向き応答にひき続き上向きの大きな振れが出現し, 5.0×10 lux でこの振れは最大となった (図 1). 上記の下向きおよび上向きの応答は下記の如くオフ応答に属する (図 5).

図 3 および図 4 にそれぞれ b 波および SNP の振

幅・刺激光強度曲線を示す. b 波では $-4 \log \sim -2 \log$ の間で, また SNP では $-3 \log \sim -1 \log$ の間で振幅と刺激光強度対数との間に直線関係が近似された.

図 5 に刺激光強度および持続時間を変えて記録した ERG を示す. 刺激光の持続時間 5 秒, 強度 0.5 lux では刺激光の遮断に伴い小さな下向きのオフ応答とこ

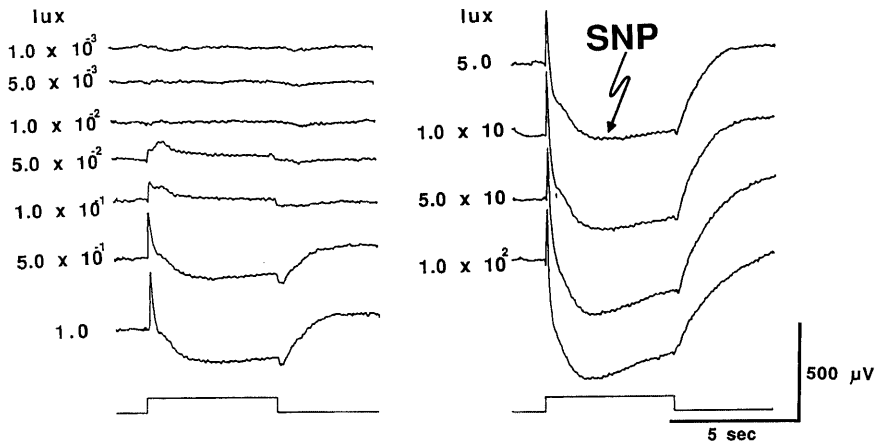


Fig. 1. Typical waveforms of the ERG from a mixed breed dog in response to a single rectangular stimulus light of $1.0 \times 10^{-3} \sim 1.0 \times 10^2$ lux at the cornea. The slow negative potential (SNP) is indicated by an arrow. The pupil was dilated. A soft contact lens was placed on the cornea. Upward deflection signifies the positivity of the electrode at the corneal limbus in reference to the electrode on the skin 2.0~2.5 cm anterior to the inion. Rectangular waveforms at the bottom indicate the onset (upward deflection) and termination (downward deflection) of stimulus light. Numerals left to ERG waveforms denote the stimulus intensity. DC amplification.

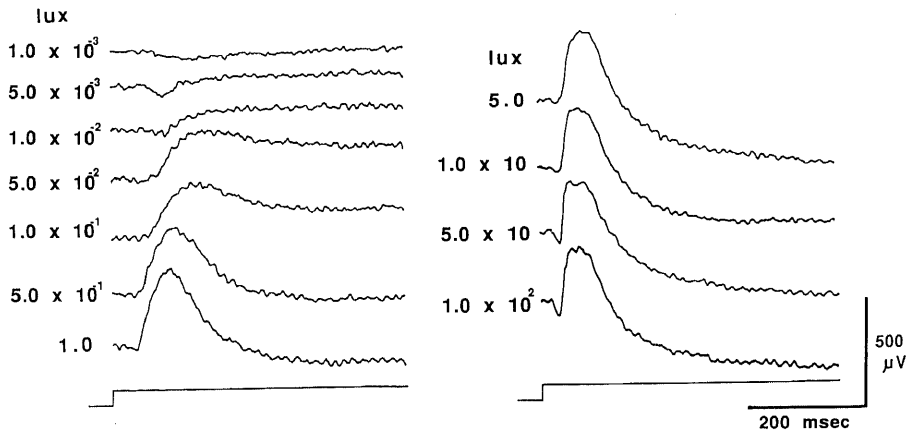


Fig. 2. Typical waveforms of the b-wave from a mixed breed dog, which is the same dog as in Fig. 1. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

れに続く大きな上向きの振れが観察され、10 lux では刺激光遮断後の小さな下向きのオフ応答は見られず大きな上向きの振れのみが観察された(図5, 一段目). 刺激光持続時間を1秒に短縮すると上記の大きな上向きの振れがb波に近づき(図5, 二段目), したがって刺激光の遮断後に生じた大きな上向きの振れはオフ応答に属する. さらに刺激光持続時間を200ミリ秒に短縮すると大きな上向きのオフ応答はさらにb波に近づきいわゆるERG c波のような波形となった(図5, 三段目). 0.6および2ジュールの閃光刺激ではb波の後に深い陰性波が出現し, 続いて基線を越える角膜側陽性の波が観察された(図5, 四段目).

図6にヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注(材料および方法V. 1. 参照)前後において強度10 lux で持続時間5秒または200ミリ秒の刺激光によって誘発されたERGを示す. 持続時間5秒の刺激光によって誘発されたERGではSNPの振幅がヨウ素酸ナトリウム静注により著明に増大したが, 角膜側陽性の大きなオフ応答の基線を越える程度はヨウ素酸ナトリウム静注前後で変化しなかった. 持続時間200ミリ秒の刺激光によって誘発されたERGにおいてもb波下降脚にひき続く角膜側陰性の波はヨウ素酸ナトリウム静注によって深くなったが, その後に続く角膜側陽性の波の基線を上回る程度はヨウ素酸ナトリウム静注前後で変

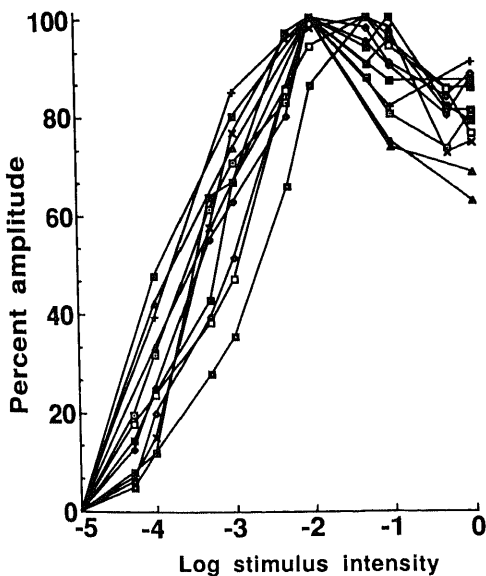


Fig. 3. Percent amplitude of the b-wave as a function of log stimulus intensity in five mixed breed dogs and one beagle dog. Zero log intensity was 1.0×10^2 lux at the cornea.

化しなかった.

II. 閃光刺激による ERG

図7にキセノン閃光放電管の入力エネルギーを変えて刺激光強度を変化させて記録したERGを示す. 刺激光強度の増大に伴いb波上向脚上に重畳するOPの振幅の増大および数の増加が観察された.

図8に40ジュールの閃光刺激によるERGを時定数3ミリ秒の増幅器によって記録した波形を示す. 図8のようにOPとして4個の振れが明瞭に認められ, これらを頂点潜時の短い順に仮に O_1, O_2, O_3, O_4 と呼ぶことにする. 人工瞳孔付きコンタクトレンズを装着した状態にて40ジュールの閃光刺激によって誘発されたOPの10頭20眼における頂点潜時の平均値±標準偏差は O_1 で 10.4 ± 0.6 , O_2 で 15.6 ± 0.7 , O_3 で 20.1 ± 0.8 , O_4 で 25.9 ± 1.1 ミリ秒であった.

III. 明上昇

図9に明上昇の典型例を示す. 光刺激開始後に下向きのSNPに続いて上向きの明上昇が出現した. 光刺激の遮断に一致して上向きのオフ応答が出現した. 人工瞳孔を装着せず極大散瞳下に100 luxの刺激光によって7頭14眼(雑種イヌ5頭10眼, ビーグルイヌ2頭4眼)において誘発された明上昇の振幅および頂点潜時の平均値±標準偏差はそれぞれ 1.84 ± 0.90 mV および 5.3 ± 0.4 分であった. また上記の光刺激条件による明上昇の振幅および頂点潜時の左右眼差の平均値±標準偏差はそれぞれ 0.22 ± 0.18 mV および 0.2 ± 0.2 分であった. また人工瞳孔付きコンタクトレンズを装着し100 luxの刺激光によって14頭28眼(雑種イヌ12頭24眼, ビーグルイヌ2頭4眼)において誘発された明上昇の振幅および頂点潜時の平均値±標準偏差

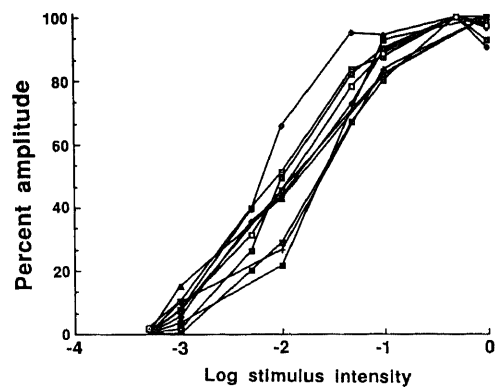


Fig. 4. Percent amplitude of the SNP as a function of log stimulus intensity in four mixed breed dogs and one beagle dog. Zero log intensity was 1.0×10^2 lux at the cornea.

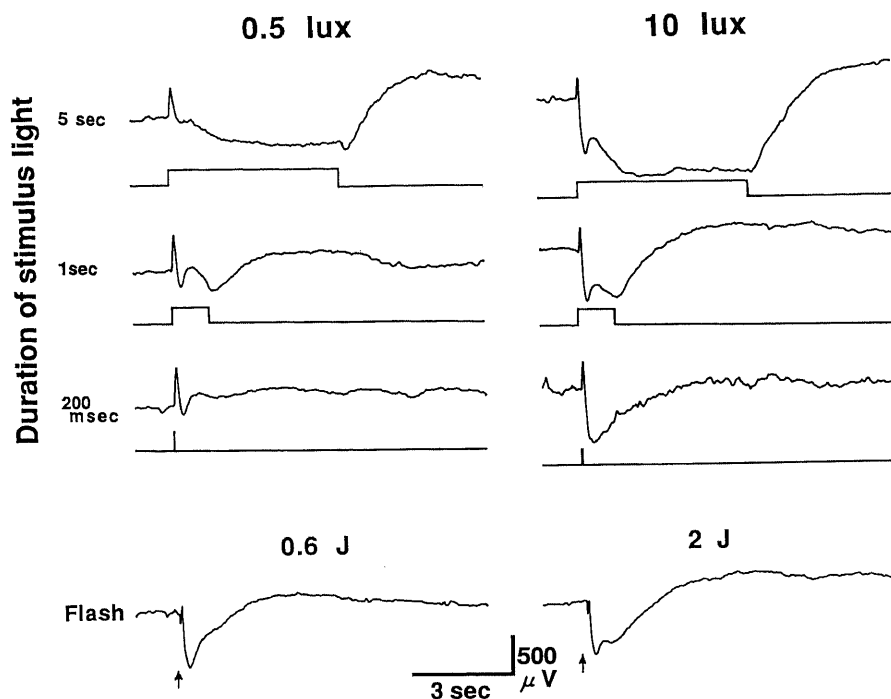


Fig. 5. Effects of stimulus duration on the off-response of the SNP in a mixed breed dog. Numerals left to ERG waveforms denote the duration of stimulus light. Numerals above ERG waveforms denote the stimulus intensity. A rectangular waveform or an arrow below each ERG waveform indicates the stimulus duration or the time when a brief flash was given. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

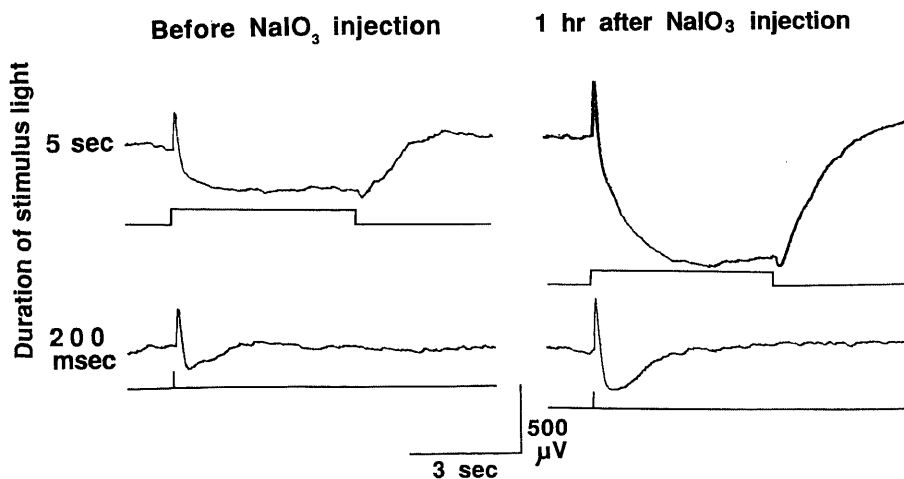


Fig. 6. Changes of the off-response of the SNP by an intravenous injection of NaIO_3 in a mixed breed dog. Numerals left to ERG waveforms denote the duration of stimulus light. The left and right traces show ERG waveforms respectively before and 1 hr after an injection of 70 mg/kg NaIO_3 . A rectangular waveform below each ERG waveform indicates the stimulus duration. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

はそれぞれ $1.99 \pm 0.81 \text{ mV}$ および 5.2 ± 0.5 分であり、また振幅および頂点潜時の左右眼差の平均値±標準偏差はそれぞれ $0.15 \pm 0.11 \text{ mV}$ および 0.1 ± 0.1 分であった。

IV. 薬物誘発応答

1. 高浸透圧応答

フルクトマニト[®]の点滴静注開始後に SP は低下し、すなわち高浸透圧応答が誘発された(図10)。しかし高浸透圧応答の振幅は個体間でかなり相違した。19頭38眼(雑種イヌ17頭34眼、ビーグルイヌ2頭4眼)の

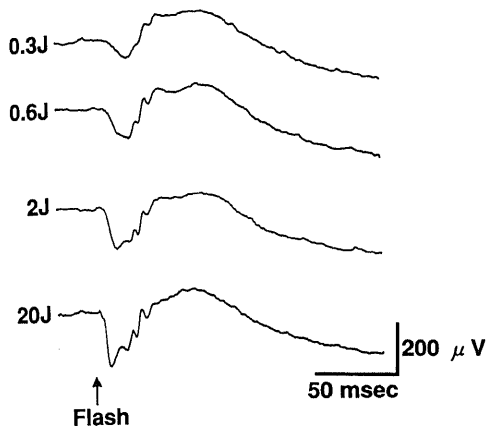


Fig. 7. Typical ERG waveforms evoked by a single brief flash of different intensity. Numerals left to ERG waveforms denote the input energy (joules) to flash lamp. Amplifier time constant was 2 sec. An arrow indicates the time when the flash was given. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

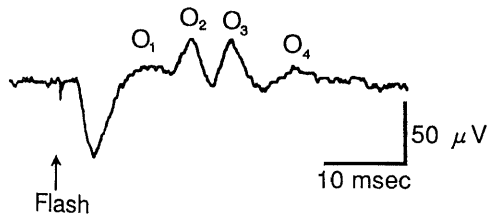


Fig. 8. Typical waveforms of the oscillatory potential (OP) evoked by a brief flash (40 J) in a mixed breed dog. The OP waveforms are tentatively referred to as O_1 , O_2 , O_3 , O_4 , as shown above each OP waveform. Amplifier time constant was 3 msec. An arrow indicates the time when the flash was given. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

高浸透圧応答の振幅の平均値±標準偏差は $1.09 \pm 0.58 \text{ mV}$ であり、振幅の左右眼差の平均値±標準偏差は $0.19 \pm 0.22 \text{ mV}$ であった。

2. ダイアモックス応答

図11に5頭の片眼での記録を示す。他眼においても僚眼と概ね同様の結果を得た。ダイアモックス応答と明上昇の振幅の大きさを同一眼で比較するために、ダイアモックス応答の記録を試みた眼(図11右、一段目)の明上昇の記録を図11左上に示す。ダイアモックス[®]静注後に SP が明らかに低下したのは5頭10眼中の1頭2眼のみであった(図11, 四段目)。しかもその振幅は 0.40 mV にとどまり、人工瞳孔付きコンタクトレンズを装着したときの明上昇の振幅の平均値 1.99 mV および高浸透圧応答の振幅の平均値 1.09 mV に比べかなり低値であった。他の3頭6眼ではダイアモックス[®]静注後も SP はほとんど変化せず(図11, 二, 三および五段目)。残りの1頭2眼では SP がかえって上昇した(図11右, 一段目)。全体としてダイアモックス[®]静注に際して SP の一定した変化は得られなかった。

3. 炭酸水素ナトリウム応答

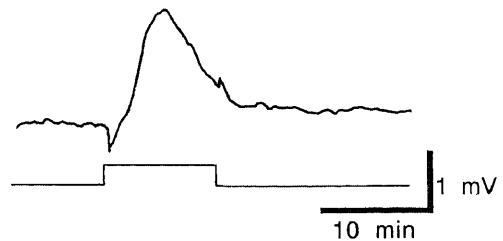


Fig. 9. A typical waveform of the light rise in a mixed breed dog. Stimulus intensity was $1.0 \times 10^2 \text{ lux}$ at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

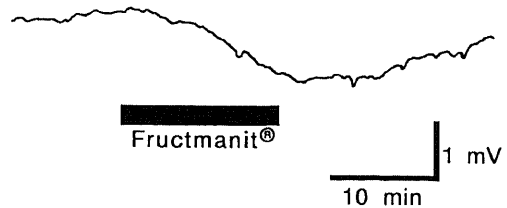


Fig. 10. A typical waveform of the hyperosmolarity response in a mixed breed dog. A black horizontal bar indicates an intravenous injection of Fructmanit[®] at a rate of 10 ml/kg/15 min . DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

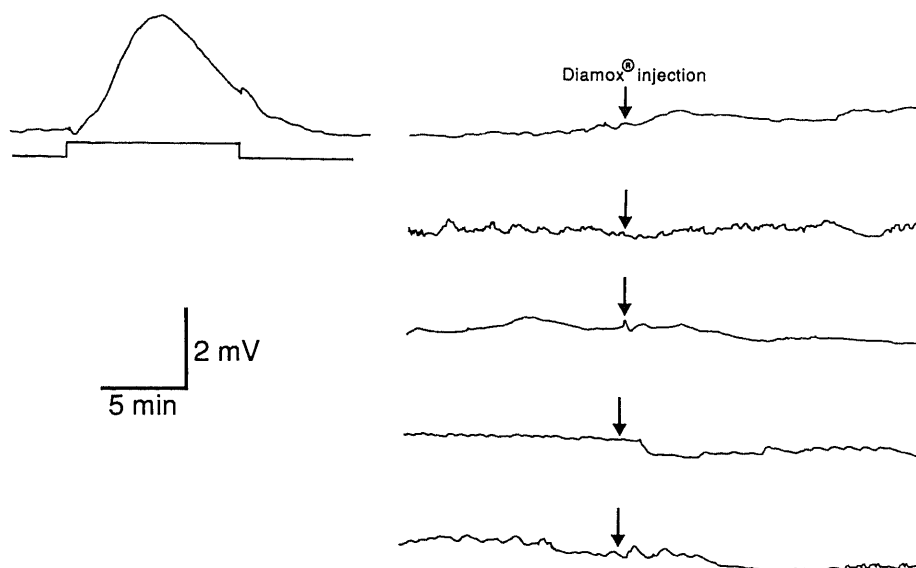


Fig. 11. Responses of the ocular standing potential to an intravenous injection of Diamox[®] in two beagle dogs (upper two traces) and three mixed breed dogs (lower three traces). Lactate Ringer's solution was injected intravenously at a rate of 20 ml/hr before and after Diamox[®] injection (25 mg/kg). Arrows indicate the time when Diamox[®] was injected intravenously. A light rise from the same dog as in the uppermost trace is shown in the upper left in comparison with the amplitude of Diamox response. The light rise was evoked by a rectangular light stimulus of 10 min duration and 100 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

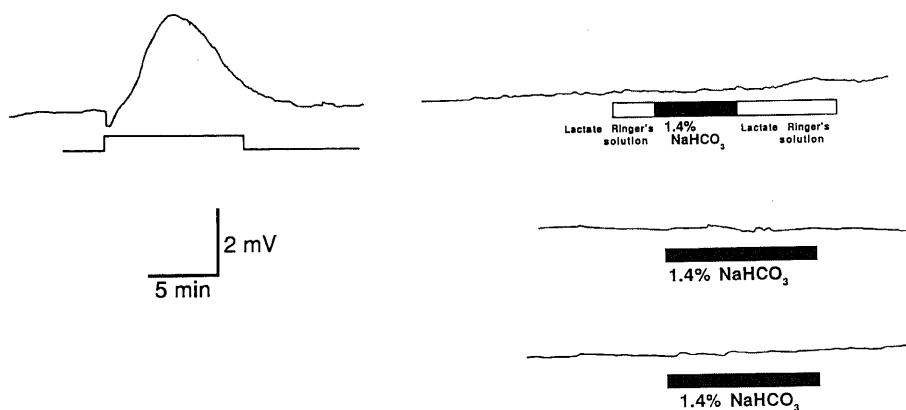


Fig. 12. Responses of the ocular standing potential to an intravenous injection of 1.4% NaHCO₃ in three mixed breed dogs. In uppermost trace, lactate Ringer's solution was injected at a rate of 0.56 ml/min/kg (white horizontal bar) before and after 1.4% NaHCO₃ injection (black horizontal bar) at the same rate as lactate Ringer's solution. In the other records, lactate Ringer's solution was injected at a rate of 20 ml/hr before and after 1.4% NaHCO₃ injection (a black horizontal bar) at a rate of 0.56 ml/min/kg. A light rise from the same dog as in the uppermost trace is shown in the upper left in comparison with the amplitude of 1.4% NaHCO₃ response. The light rise was evoked by a rectangular light stimulus of 10 min duration and 100 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

1.4%炭酸水素ナトリウム静注後の SP の記録を図12に示す。3頭のうち片眼の記録のみを示す。他眼は僚眼と概ね同様の結果を示した。図12の上段はラクテック[®] (0.56ml/min/kg) の静注によって SP の変化が惹起されないことをまず確認した後、同一の速度で1.4%炭酸水素ナトリウムを静注し、その後再びラクテック[®] (0.56ml/min/kg) の静注に戻した際の SP の記録である。1.4%炭酸水素ナトリウムを静注しても SP は変化しなかった。図12の中および下段においては 20ml/hr でラクテック[®] を輸液していた途中で1.4%炭酸水素ナトリウム (0.56ml/min/kg) に切り替え静注したが、1.4%炭酸水素ナトリウムの静注により SP の変化は観察されなかった。

V. 緩徐陰性波 (slow negative potential, SNP) の検討

1. ヨウ素酸ナトリウム静注

使用した7頭のイヌすべてにおいて他眼は僚眼と概ね同様の結果を示した。図13にヨウ素酸ナトリウム 25mg/kg (1頭) 静注前および静注後2時間の明上昇

Before injection



After injection

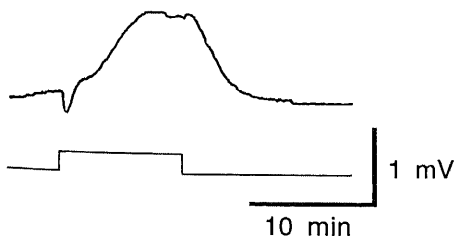


Fig. 13. Effects of an intravenous injection of 25 mg/kg NaIO₃ on the light rise in a mixed breed dog. The upper and lower traces are the light rise respectively before and 2 hr after NaIO₃ injection. Stimulus intensity was 1.0×10^2 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

を示す。上記のヨウ素酸ナトリウム量では静注後2時間を経ても明上昇は消失しておらず、ヨウ素酸ナトリウムによる RPE 機能の抑制¹⁰⁾は不十分であった。

ヨウ素酸ナトリウム 50mg/kg (4頭) 静注後1~1.5時間で4頭のうち1頭においてやや減弱した明上昇が記録されたが(図14)、残り3頭において SNP 振幅は大きく(陰性の方向へ深く)なり、明上昇は完全に消失した。図15にヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg (2頭) 静注後の SNP の経時的变化を示す。ヨウ素酸ナトリウム静注後約20分で SNP 振幅は静注前よりやや減少したが、その後徐々に増大し、静注後40分を過ぎると SNP 振幅はほぼ一定し、この際の SNP 振幅はヨウ素酸ナトリウム静注前に比して明らかに大きかった。b波の頂点潜時および振幅はヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注前後でほとんど変化しなかった。調べた2頭ともヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注後1~1.5時間で明上昇は消失した(図16)。図17の中段にヨ

Before injection



After injection

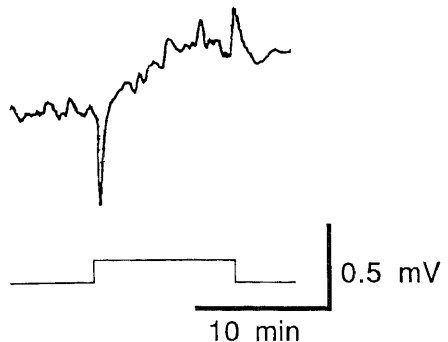


Fig. 14. Effects of an intravenous injection of 50 mg/kg NaIO₃ on the light rise in a mixed breed dog. The upper and lower traces are the light rise respectively before and 1.5 hr after NaIO₃ injection. Stimulus intensity was 1.0×10^2 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

ウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注前の波形 (図17, 上段) から静注後の波形 (図17, 下段) を差し引いた波形を示す。この波形がヨウ素酸ナトリウム静注によって消失した RPE c波であると考えられる。

2. 明上昇中の SNP の変化

図18に2頭4眼の記録のうちの1眼の記録を示す。他の3眼においても同様の結果を得た。SNP 振幅は刺激開始時に比べ明上昇の増大とともに減少し、明上昇の頂点 (明極大 light peak) 付近で最も小さくなり基線より陽性の振れすなわち ERG c波が出現した。次いで SP の減少に伴い SNP 振幅は再び刺激開始時の値に戻った。第2明上昇の頂点付近で再び SNP 振幅

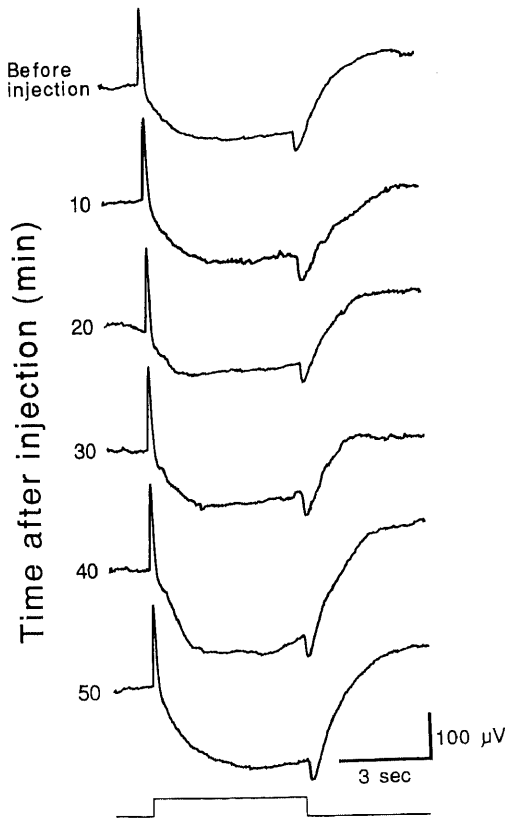


Fig. 15. Changes of the SNP after an intravenous injection of 70 mg/kg NaIO_3 in a mixed breed dog. The uppermost trace is the SNP before NaIO_3 injection. Numerals left to ERG waveforms denote time (minutes) after NaIO_3 injection. Stimulus intensity was 1.0 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

は小さくなったが基線を越え陽性となることはなかった。

3. 水晶体・硝子体切除術後の SNP の変化

図19Aに雑種イヌにおける水晶体・硝子体切除術の術前と術後7日, 42日の SNP を示す。術前みられた SNP は被手術眼において術後7日では陽性波に置き換えられ, ERG c波が観察されるようになった (図19A, 二段目)。この ERG c波は術後42日で再び SNP に置き換えられた (図19A, 三段目)。図19Bに同一の雑種イヌにおける術後7日の40ジュール閃光刺激による ERG を示す。被手術眼において b波振幅の減少が観察されたが, a波の振幅および頂点潜時には被手術眼と対照眼の間で差はみられなかった。

4. PII 成分の SNP への関与

図20の最上段は対照 ERG を, 二段目はグルタミン酸ナトリウム硝子体内注入後40分の ERG を示す。グルタミン酸ナトリウム硝子体内注入後40分では b波は消失し, 下向きのおフ応答も消失し上向きのおフ応答

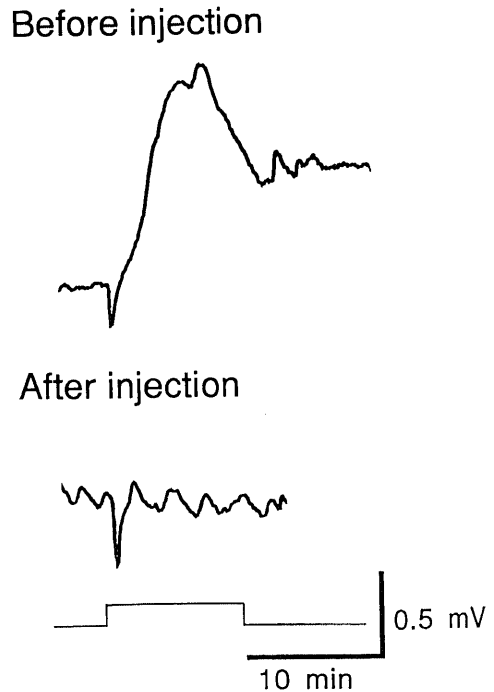


Fig. 16. Effects of an intravenous injection of 70 mg/kg NaIO_3 on the light rise in a mixed breed dog. The upper and lower traces are the light rise respectively before and 1.5 hr after NaIO_3 injection. Stimulus intensity was 1.0×10^2 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

に置き換わった。三、四段目は次いでヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg を静注した後それぞれ30分、60分の ERG を示す。時間経過とともに SNP 振幅が著明に大きく (陰性の方向へ深く) なった。

考 察

イヌ ERG が他の動物のそれと著しく異なる特徴は、b波に続く角膜側陽性のc波が観察されず、代わりに同様の時間経過の角膜側陰性の波がみられることである。著者はこの角膜側陰性の波を SNP と命名した。イヌの他に ERG 上c波を欠如する動物としてアルビノラット¹⁸⁾、ヨザル¹⁹⁾が知られている。イヌ ERG 研究の歴史を振り返ると、Piper⁹⁾が1911年にイヌ ERG についてはじめて記載した。しかし彼はイヌにおいてc波が出現せず角膜側陰性の波形が観察され

たのは実験準備段階の組織障害によるものと考えた。Parry ら⁴⁾はイヌでは他の動物と異なりc波がみられず SNP が観察されることを指摘した。Nilsson ら⁵⁾はイヌのセロイドリポフスチノーシス症例の ERG と電子顕微鏡所見を報告した。Dawson ら⁶⁾はイヌにおいても閃光刺激によりc波は観察され、麻酔 (ハローセン、ペントバルビタールナトリウム) が深いとc波振幅が減少すると報告した。しかし Dawson ら⁶⁾の短い持続時間の閃光刺激で誘起された一見c波様の振りは後述のように真のc波ではない可能性がある (図5および図6)。以上のようにイヌ ERG に関する報告は散見されるのみである。

ERG において観察されるc波は主に RPE アピカル膜 (apical 膜) 由来の角膜側陽性の波⁷⁾と Müller 細胞由来の角膜側陰性のスロー PIII (slow PIII)²⁰⁾により構成されている。また Griff ら²¹⁾はc波の経過中に RPE のアピカル膜に存在する $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ ポンプの活動が低下することによるアピカル膜の脱分極も ERG 上c波形成に関与すると報告した。c波を有するネコやカエルでは RPE c波振幅がスロー PIII 振幅を凌駕しているので ERG 上では角膜側陽性のc波として記録されると考えられる。イヌ ERG においてc波が観察されず角膜側陰性の SNP が観察される理由としてはイヌでは RPE c波が存在しないかまたは RPE c波がスロー PIII に比べて小さいことが挙げられる。本編では3つの手法すなわちヨウ素酸ナトリウムの静注 (V.1)、硝子体切除術後の SNP の変化 (V.3)、明上昇中の SNP の変化 (V.2) を用いて SNP の波形形成に RPE が関与しているか否か、関与していればどの程度かを調べた。

Noell¹⁰⁾はヨウ素酸ナトリウムの適量をウサギに静注すると選択的に RPE が障害されることを発見した。本研究ではイヌにおいてヨウ素酸ナトリウムを静注することにより RPE を障害し、このときの SNP 変化を観察することにより間接的に RPE c波の波形を推測した。まずイヌにおいて RPE を障害するに足るヨウ素酸ナトリウムの投与量を決定する必要があった。ヨウ素酸ナトリウム 25mg/kg を静注したところ、静注後2時間を経て明上昇は減弱したがなお明らかに記録され (図13)、ヨウ素酸ナトリウム 50mg/kg 静注では4頭のうち3頭において静注後に明上昇が消失したが、1頭において頂点潜時が遅れやや振幅が減少した明上昇が記録された (図14)。ヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注の2頭では2頭とも静注後に明上昇は消失した (図16)。c波を消失するに足るヨウ素酸ナトリウム投与量に関しウサギでは 20mg/kg²²⁾、30mg/

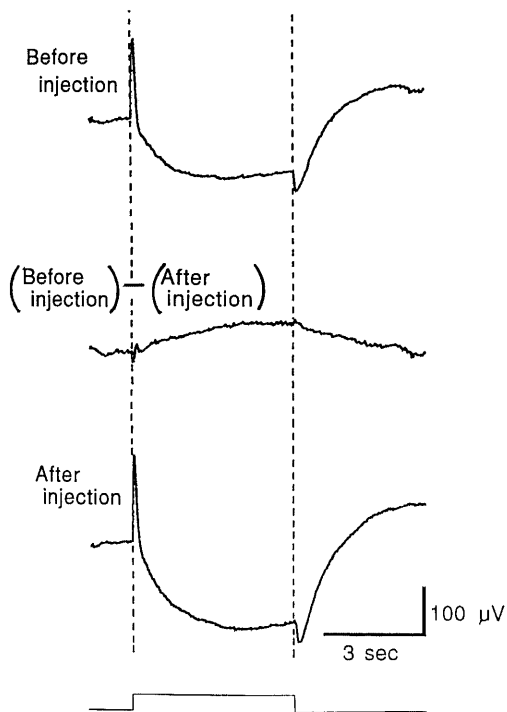


Fig. 17. Subtraction of the SNP waveform after injection of 70 mg/kg NaIO_3 from the SNP waveform before injection. The uppermost and lowest traces are the SNP respectively before and after NaIO_3 injection. The middle trace is the waveform which was obtained by subtraction of the lowest trace from the uppermost trace. Stimulus intensity was 1.0 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

kg²³およびヒツジでは 30mg/kg²⁴の報告がある。イヌではc波は観察されないから本報においては明上昇の消失を RPE の障害の指標とした。本報においてイヌで明上昇の消失に要したヨウ素酸ナトリウム投与量(70mg/kg)はウサギ²²⁽²³⁾やヒツジ²⁴における投与量より多かった。この原因としてイヌでは、ウサギ、ヒツジに比べてヨウ素酸ナトリウムに対する RPE の抵抗性が大きい可能性の他に、本報ではイヌにおける投与量決定の指標として RPE が主な発生母体と考えられている明上昇⁸⁹の消失を用いているのに対しウサギ²²⁽²³⁾およびヒツジ²⁴の実験ではc波の陰性化を指標としていることも一因と考えられる。すなわちウサギ²²⁽²³⁾およびヒツジ²⁴の実験では RPE の機能障害が十分でなくてもc波は陰性化し、この陰性化した波に RPE c波が含まれていないとは断言できない。ヨウ素酸ナトリウム 70mg/kg 静注後 SNP 振幅は一時的に減少した(浅くなった)が(図15, 三段目)、その後徐々に大きく(深く)なり、静注後40分以後では SNP 振幅はほぼ安定した(図15, 五段目)。Nao-iら²³はウサギにおいてヨウ素酸ナトリウム(20mg/kg)静注後一時的にc波振幅が増大し、その後減少したと報告した。このc波の一時的増大はイヌにおいてヨウ素酸ナトリウム静注後一時的に SNP が減弱した(浅くなった)こと(図15)と同一の機序に基づく現象と考えることができる。すなわちヨウ素酸ナトリウム静注後一時的に RPE c波が増大すると考えれば、ヨ

ウ素酸ナトリウム静注によって一時的にウサギにおいてc波が増大し²³、イヌにおいて SNP が減弱した現象(図15)を一元的に説明できよう。Nilssonら²⁴はヨウ素酸ナトリウム 30mg/kg 静注後100~150分では組織学的に RPE のアピカル膜に比べベーザル膜(basal 膜)により強い障害が観察された(ヒツジ)と報告した。この報告²⁴に基づき上記の一過性の RPE c波振幅増大の説明として、ヨウ素酸ナトリウム静注によりまず RPE のベーザル膜が障害されベーザル膜の電気抵抗が減少するので、RPE c波のベーザル膜における電圧降下が減少し、その結果 RPE c波振幅が増大する²⁵との推論が可能である。さらに時間が経過しヨウ素酸ナトリウムによる RPE の障害がアピカル膜にまで波及すれば RPE c波は減弱ついに消失し、ERG 上ではc波は消失、陰性化し(ウサギ、ヒツジなど)また SNP は増大(深く)する(イヌ)。Nilssonら²⁴はまた組織学的にヨウ素酸ナトリウム 30mg/kg 静注後100~150分までは神経網膜の障害は発生せず、a波およびb波も影響を受けなかった(ヒツジ)と報告した。今回の実験ではヨウ素酸ナトリウム静注量は上記のウサギ²²⁽²³⁾およびヒツジ²⁴における報告に比べ多かったが、静注後約1時間まではb波の振幅および頂点潜時にはほとんど変化はみられず(図15)、内層網膜の障害はほとんど起こっていないと考えられる。したがってヨウ素酸ナトリウム静注前の ERG 波形から静注後50分の ERG 波形を差し引いた波形(図17)はヨウ

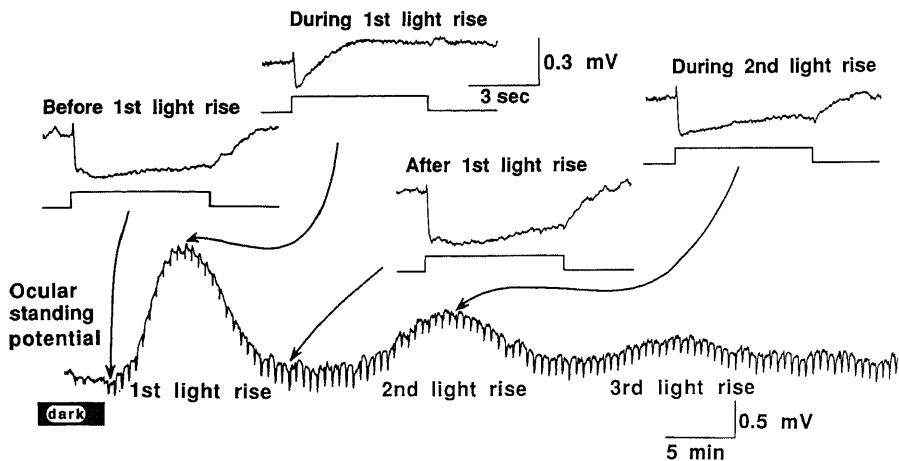


Fig. 18. Changes of the SNP during light rises in a mixed breed dog. Stimulus light of 6 sec duration and 1.0×10^2 lux at the cornea was repetitively given at 1/30 Hz after dark adaptation of 30 min. The light rise was evoked by light adaptation due to the repetitive stimuli. A black contact lens with an artificial pupil (6 mm in diameter) was placed on the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

素酸ナトリウムにより障害された RPE 由来の RPE c 波を表していると考えられる。

硝子体切除術は硝子体ゲルを除去し硝子体腔を灌流液で置換する手術である。この手術操作により網膜とくにそのなかでもより硝子体側に位置する内層網膜の細胞が障害されやすいと予想される。図19Aに示すよ

うに硝子体切除術後7日では SNP は消失し代わって c 波が観察された。この c 波出現の機序の説明として、スロー PIII の起源である Müller 細胞が硝子体切除術により障害されたためスロー PIII が減弱し RPE c 波振幅がスロー PIII 振幅を上回ったために ERG 上で SNP が減弱しその極性が逆転し、c 波が出

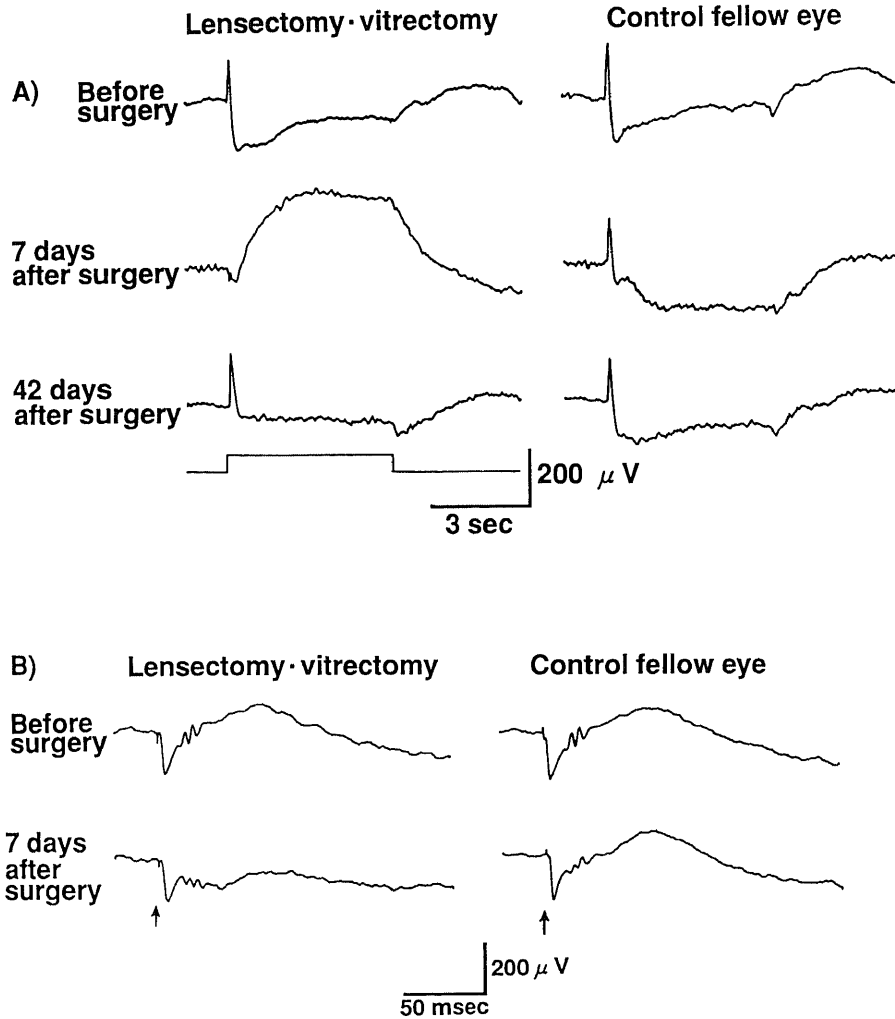


Fig. 19. Effects of lensectomy·vitrectomy on the ERG in a mixed breed dog. A black contact lens with an artificial pupil (6 mm in diameter) was placed on the cornea. A) The uppermost, middle and lowest traces show the SNP before surgery, 7 days after surgery and 42 days after surgery, respectively. Stimulus intensity was 1.0×10 lux at the cornea. DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1. B) Effects of lensectomy·vitrectomy on the ERG evoked by a single brief flash (40 J). The upper and lower traces show the ERG before and 7 days after surgery, respectively. Amplifier time constant was 2 sec. An arrow indicates the time when the flash was given. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

現した可能性がある。

Calissendolff ら²⁰⁾, Skoog ら²¹⁾ および Nilsson ら²⁰⁾ はヒツジとヒトにおいて明上昇中に c 波振幅が増大することを報告した。この現象の説明として Linsenmeier ら⁹⁾ によれば明上昇中に RPE のペーザル膜の電気抵抗が減少し RPE c 波のペーザル膜における電圧降下が小さくなるために ERG 上 c 波振幅が大きくなるという(ネコ)。イヌにおいて SNP と明上昇を同時に記録したところ SNP 振幅は明上昇中に減少し(浅くなり)明上昇極大付近では基線を越える角膜側陽性の波すなわち c 波が観察されるようになった(図18)。この結果はイヌにおいてもヒツジ、ヒト、ネコと同様に明上昇中では RPE c 波が増大しているこ

とを示唆するものと考えられる。

以上の3つの実験結果より、イヌでは明上昇中などの特殊な場合以外ではスロー PIII 振幅が RPE c 波振幅を凌駕しているので ERG 上では角膜側陰性の SNP が記録されるのであり、RPE c 波が欠如しているのではないと推測される。

Täumer ら²²⁾ は健康なヒトにおいて c 波を有しない症例を報告した。彼らはヒトにおいて b 波下降脚に続き角膜側陰性の波が出現し、刺激光の遮断後に基線を越える上向きの振れが出現する ERG 波形を示し、この波形は本編の図1の 5.0×10^{-1} lux より強い刺激光強度によるイヌ ERG と全く同じ波形である。ヒトにおいて c 波を欠如する症例が存在すること²³⁾ や c 波振

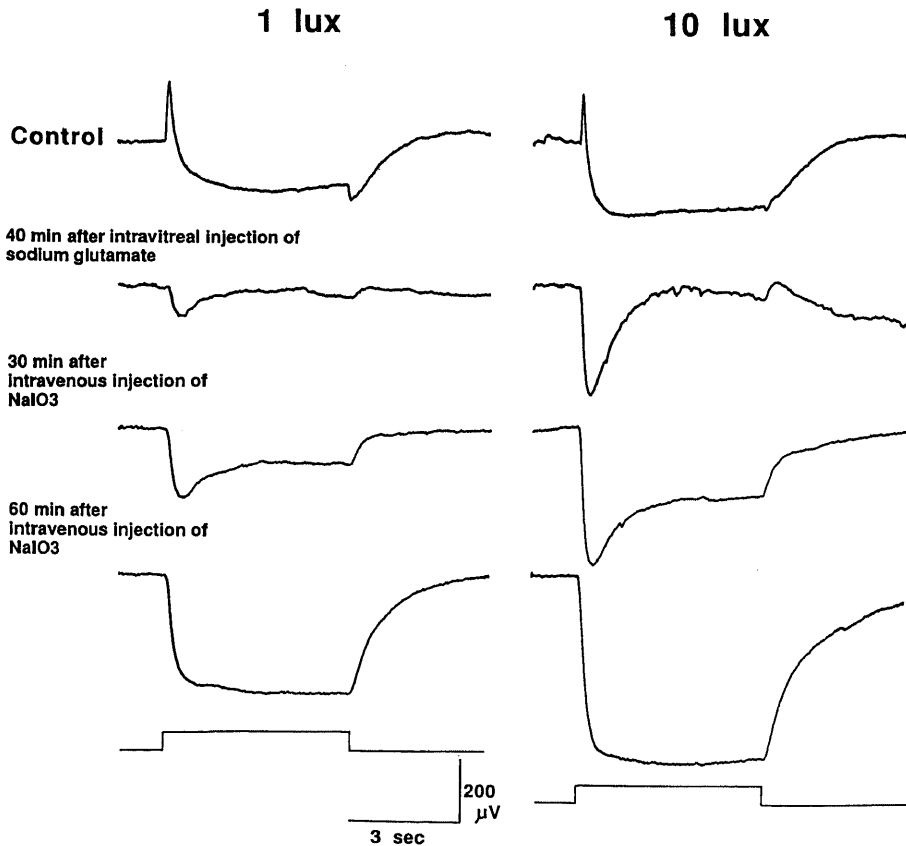


Fig. 20. Changes of the SNP with an intravitreal injection of sodium glutamate and an intravenous injection of NaIO_3 in a mixed breed dog. Numerals above the SNP waveforms denote stimulus intensity at the cornea. The uppermost traces show control responses before injection. The second traces show responses 40 min after an intravitreal injection of sodium glutamate (45 mM). The third and lowest traces show responses 30 min and 60 min respectively after an intravenous injection of NaIO_3 (70 mg/kg). DC amplification. For other recording parameters see the legend for Fig. 1.

幅に個体差が大きいこと³⁰⁾はイヌと同様スロー PIII 振幅が RPE c 波振幅を凌駕していたり、またスロー PIII 振幅と RPE c 波振幅の比に個体差が大きいことに基因すると推測される。

Dawson ら⁹⁾はイヌにおいても c 波が観察され、ハローセンやペントバルビタールナトリウムによる麻酔が c 波振幅を減少させ、また麻酔による c 波振幅減少の程度にはイヌの種類により差があると述べた。彼ら⁹⁾はイヌにおいて c 波が観察されないのは麻酔の影響による可能性があるとして推測している。しかし彼ら⁹⁾が用いた刺激光は持続時間 25 マイクロ秒と非常に短く、図 5 に示すように刺激光の持続時間を短くするとオフ応答である上向きの振れが b 波へ近づき、一見 c 波様の形態を呈する。しかしこのオフ応答は図 6 に示すようにヨウ素酸ナトリウム (70mg/kg) 静注により変化せず、RPE の関与をほとんど受けないと考えられ、このオフ応答を他の動物における c 波と同列に扱うべきではない。Dawson ら⁹⁾が示したイヌの c 波は上記の如くオフ応答である可能性があり、彼ら⁹⁾が示したイヌの c 波に RPE が関係しているという証拠は全くない。

Nilsson ら³⁾はセロイドリポフステノーシスのイヌの ERG を報告した。この報告には正常イヌ ERG も示されており、その ERG は我々のイヌ ERG 波形と同一である。彼ら³⁾は SNP に続く光遮断に一致した上向きの応答 (オフ応答) を c 波と呼んでいる。前述のようにこのオフ応答の基線を上回る程度はヨウ素酸ナトリウム静注前後で変化せず (図 6)、このオフ応答には RPE の関与は少ないと推測される。したがってこのオフ応答を c 波と呼ぶのは妥当ではない。

SNP 波形の構成には RPE c 波とスロー PIII 以外に PII 成分および視細胞電位も関与し得ると考えられる。図 20 の二段目はグルタミン酸ナトリウム硝子体内注入により PII および後シナプスの成分を消去²⁹⁾した波形を示す。グルタミン酸ナトリウムの硝子体内注入により b 波および下向きのオフ応答が消失し、上に凸 (角膜側陽性方向) の波形が SNP と同一の時間経過で出現した (図 20)。上に凸の波形が出現した理由として、RPE c 波の増大またはスロー PIII の減弱が考えられ、その原因として最も単純に推測すれば直前に行ったグルタミン酸ナトリウムの硝子体内注入による硝子体腔内環境変化 (眼圧の変動、温度の変化など) が Müller 細胞を軽度障害しスロー PIII が減弱したことにより ERG 上で上に凸の波形が出現したと推察される。角膜側陽性の電位である PII 成分は SNP 波形形成にどの程度関与しているのだろうか。PII 成分は

ERG 上 b 波を形成する部分とその後光遮断まで持続する振れ (Brown らのいう dc 成分³⁰⁾) から成る陽性の電位と考えられる。PII 成分が SNP 波形形成に関与していると仮定すれば、b 波に続く角膜側陽性の成分として関与し得るであろう。図 20 の一段目の ERG にみられる下向きのオフ応答は PII 成分のオフ応答と考えられ、このオフ応答はグルタミン酸ナトリウムの硝子体内注入によって消失した (図 20、二段目)。図 20 の一段目の下向きのオフ応答 (PII 成分のオフ応答) の振幅の大きさを勘案すれば、PII 成分のうち b 波に続く角膜側陽性部分の振幅は SNP 振幅に比べはるかに小さいと推測される。さらに PII 成分を消去した図 20 の二段目の波形では上述のようにスロー PIII が減弱してはいるものの、大きな角膜側陰性の波形は出現しなかったことから、PII 成分の SNP 波形形成への関与は小さいと考えられる。図 20 の四段目は続いてヨウ素酸ナトリウム静注により RPE c 波を消去した波形である。この陰性の波形 (図 20、四段目) を構成する要素としてスロー PIII と視細胞電位が考えられる。ではスロー PIII と視細胞電位のどちらがこの陰性波構成の主体を成しているのだろうか。硝子体切除術後 7 日では SNP が消失し角膜側陽性の c 波により置き換えられたが (図 19A、二段目)、同一記録日の閃光刺激による ERG では a 波の振幅および頂点潜時には被手術眼と対照眼でほとんど差はなかった (図 19B)。これより硝子体切除術により視細胞電位はほとんど不変であると推測できる。ここで SNP の大部分が視細胞電位により構成されていると仮定すると、硝子体切除術によりスロー PIII が減弱したとしても、ERG 上 SNP 振幅が減少する (浅くなる) にとどまるはずであり、極性が逆転し角膜側陽性の c 波が出現すること (図 19A、二段目) はあり得ない。したがって術後 7 日に出現した陽性波すなわち c 波のほとんどはスロー PIII の減弱によるものであり、また図 20 の四段目の陰性波の大部分はスロー PIII により構成されていると考えられ、硝子体切除術前のイヌ ERG では視細胞電位に比べスロー PIII 振幅の方がかなり大きいと考えられる。

以上をまとめると、PII 成分と視細胞電位の SNP 波形形成への関与は比較的小さく、SNP の波形の変化は大部分スロー PIII と RPE c 波の変化によるものと解釈してよいと考えられる。正常なイヌではスロー PIII 振幅が RPE c 波振幅を凌駕しているため、スロー PIII 振幅の変化の方が RPE c 波振幅の変化より鋭敏に SNP 振幅の変化として ERG 波形上に現れると考えられる。視細胞の光刺激により惹起される網膜

下腔の細胞外カリウム濃度 $[K^+]_{out}$ の減少は Müller 細胞遠位側 (視細胞側) の過分極を引き起こし角膜側陰性のスロー PIII を発生させるといわれている²⁹。したがって SNP を Müller 細胞活動の指標として利用することが可能であると考えられる。b 波もスロー PIII と同様に主に Müller 細胞に起源を有するといわれている³⁰。光刺激後に視細胞を介して神経細胞の活動が生じ、網膜内網状層付近の $[K^+]_{out}$ の増加が起こり、増加した細胞外カリウム (K^+) は Müller 細胞に取り込まれ主に Müller 細胞近位側 (硝子体側) より排出される。その結果 Müller 細胞外で K^+ は主に近位側 (硝子体側) から遠位側 (視細胞側) に向けて流れるので ERG 波形上で角膜側陽性の b 波が発生する³⁰。発生機序においてスロー PIII と b 波の大きな違いは、スロー PIII は視細胞機能に依存するが網膜内の後シナプスの神経細胞の活動には依存せず、一方 b 波は視細胞にも後シナプスの神経細胞にも依存することである。したがって網膜の後シナプスの神経細胞の機能失調により b 波は影響されるが、スロー PIII は影響されないことがあり得る。スロー PIII を反映すると推測される SNP を利用することにより Müller 細胞機能を b 波とは異なった側面から推察することが可能と思われる。しかし SNP はスロー PIII と RPE c 波の和であることを常に念頭に置き、SNP の評価には明上昇や高浸透圧応答を利用し RPE 活動の状態に注意を払うべきである。

OP は後シナプスの網膜神経要素の応答を反映するといわれている³⁰。OP の数個の振れのすべてが網膜内の同一の部位から発生するのではなく、後方の振れが前方の振れに比べてやや外層寄りの網膜部位で発生するといわれている³⁰。イヌの閃光刺激による ERG では 20 または 40 ジュール以上の刺激光強度を与えた場合、通常 OP の 4 個の振れが観察された (図 8)。しかしながらイヌ O_1 の頂点潜時は 10.4 ± 0.6 ミリ秒であり、ヒト O_1 頂点潜時 14.2 ± 0.36 ミリ秒³⁰ に比べ著しく短かった。また同一のイヌで異なる日に OP を記録すると O_1 が不明瞭となり分離できない場合があった。本編では OP の $O_1 \sim O_4$ を図 8 の如く定義したが、 O_1 は OP の他の振れ ($O_2 \sim O_4$) に比べ異なった性質を有するようになると思われる。

ERG を直流増幅によって記録すると c 波を有するネコなどでは c 波に続いて、イヌでは SNP に続いて角膜側陽性の緩徐な波すなわち明上昇が出現する (図 9)。明上昇の主な発生母体は RPE と考えられており³⁰、とくに Griff ら⁹、Linsenmeier ら⁹によれば RPE のペーザル膜の脱分極に由来するという。しか

し正常な明上昇の発生には視細胞や内層網膜も正常でなければならない^{36,38}ことに留意する必要がある。イヌにおいて明上昇を RPE 機能の指標として利用するために、正常なイヌ明上昇の振幅と頂点潜時について検討した。人工瞳孔付きコンタクトレンズを装着した群と装着しない群の間でイヌ明上昇の頂点潜時および振幅には有意な差は見られなかった。そこで人工瞳孔付きコンタクトレンズ装着群を例にとると、イヌ明上昇の頂点潜時の平均値±標準偏差は 5.2 ± 0.5 分、最大値は 6.2 分、最小値は 4.0 分、変異係数は 0.10 であり、頂点潜時の個体間のばらつきは小さかった。一方イヌ明上昇の振幅の平均値±標準偏差は 1.99 ± 0.81 mV、最大値は 2.67 mV、最小値は 0.80 mV、変異係数は 0.41 であり、振幅の個体間のばらつきが大きかった。振幅のばらつきの原因として明上昇振幅自体の個体差、イヌの顔面の形状の個体差による電極の位置の違い、電極と皮膚および眼の接触状態の違いなどが考えられる。イヌにおいて網膜機能評価の指標として明上昇の振幅を利用するにはこのばらつきの影響を減少しなければならない。同一の個体において両眼のうち一方を被験眼、他方を対照眼として明上昇振幅の (被験眼の値/対照眼の値) の比を用いれば振幅の個体差およびイヌの顔面の形状の差の影響はほぼ相殺され除外できると考えられる。明上昇振幅の両眼の比を用いると平均値±標準偏差は 0.93 ± 0.10 、変異係数は 0.11 となり個体間のばらつきは小さくなった。したがってイヌにおいて網膜機能評価の指標として明上昇の振幅を利用するには明上昇振幅の (被験眼の値/対照眼の値) の比を用いるのが妥当であろう。

RPE を主な発生母体とする c 波や明上昇を誘発するには光刺激が必要であり、したがって c 波や明上昇の記録は中間透光体の混濁に影響される。また c 波や明上昇の発生には視細胞や内層網膜も関与^{36,39}、したがって c 波や明上昇は特異的な RPE 機能の指標とはなり得ない。我々の教室は光刺激の代わりに薬物負荷刺激を用いる RPE の検査法^{10,13}を創案した。現在臨床で使用されている RPE の薬物誘発応答として高浸透圧応答¹⁰、ダイアモックス応答¹¹、炭酸水素ナトリウム応答^{12,13}がある。本報ではこれら 3 種の薬物誘発応答をイヌにおいて RPE 検査法として利用できるかを検討した。

ヒト^{10,14}、サル^{10,14}、ネコ⁴⁰、イヌ¹⁴、ウサギ⁴⁰、カエル⁴¹およびヒヨコ⁴²において 20% マンニトール (1.14×10^3 mOsm)、フルクトマニト^R (1.4×10^3 mOsm) のような高浸透圧液を静脈内に投与 (in vivo) または RPE を挟んで脈絡膜側に投与 (in vitro) すると SP が

減少することが知られている。当教室の真鯨¹⁴⁾はイヌにおいて高浸透圧応答が存在することを報告した。今回の実験でもイヌにおいてフルクトマニト^R静注後 SP が減少することが確認された(図10)。しかしながらイヌの高浸透圧応答の振幅の平均値±標準偏差は $1.09 \pm 0.58 \text{ mV}$ 、最大値は 2.92 mV 、最小値は 0.39 mV 、変異係数は0.53であり、振幅の個体間のばらつきが大きかった。このばらつきの原因は明上昇振幅におけるばらつきの原因(上記)とほぼ同じと考えられる。高浸透圧応答の振幅の同一個体における左右眼の比の平均値±標準偏差は 1.00 ± 0.23 、変異係数は0.23で振幅そのものよりばらつきは小さくなった。今回用いたフルクトマニト^Rの体重当たりの静注量(7.5~10ml/kg/15min)は臨床で使用する最大量に相当する¹⁰⁾⁹⁾。イヌでは高浸透圧応答の振幅のばらつきが大きかったので、その振幅とフルクトマニト^R静注量との関係は検討できなかった。

ヒト¹¹⁾、サル¹²⁾においてアセタゾラマイド(ダイアモックス^R)を静注すると SP が低下することが知られており、この応答はダイアモックス応答と呼ばれる。ダイアモックス^Rは炭酸脱水酵素阻害剤の1つとして知られ、眼科領域では眼圧降下剤として広く治療に用いられている薬剤である。眼では毛様体⁴³⁾⁴⁴⁾および網膜⁴⁵⁾に炭酸脱水酵素の活性が高い。ダイアモックス応答の主な発生母体は RPE と考えられており⁴⁶⁾、とくにペーザル膜の過分極による SP の低下を反映していると考えられている⁴⁶⁾。今回の実験ではダイアモックス^R静注により一定した SP の変化は観察されず、SP 低下が1頭2眼、SP 上昇が1頭2眼、SP 不変が3頭6眼であった(図11)。イヌにおいてダイアモックス応答が一定しない説明として、1)炭酸脱水酵素のイヌ眼組織における分布がヒト、サル、カエルと異なる、2)虹彩および毛様体においてもダイアモックス^R静注により電位変化を生じ RPE における電位変化を相殺してしまう、3)あるいは麻酔剤の影響などの可能性が考えられる。しかしダイアモックス^R静注により虹彩および毛様体において電位が発生したとしてもアトロピンにより十分に散瞳されているから虹彩および毛様体の前後に発生した電位は瞳孔領を通り短絡されてしまい虹彩毛様体の前後には電位は発生し難いと考えられる。塩酸ケタミンはダイアモックス応答を抑制する¹³⁾が、この抑制効果は塩酸ケタミン 12.5 mg/kg 投与後2時間でほぼ消失する¹³⁾。本編では塩酸ケタミン $10 \sim 14 \text{ mg/kg}$ 筋注後2時間以上経た後にダイアモックス応答を記録したから塩酸ケタミンのダイアモックス応答への影響はほとんど消失して

いると考えられる。ヒト、ネコ、ウサギにおいて1.4%炭酸水素ナトリウムを静注すると SP が減弱することが知られており、この現象は炭酸水素ナトリウム応答と呼ばれる¹²⁾¹³⁾。当教室の瀬川¹²⁾によれば、炭酸水素ナトリウム応答は主として RPE の脈絡膜側における $[\text{HCO}_3^-]$ 上昇によって誘起される RPE のアピカル膜の脱分極に起因する SP の低下に由来するという。ネコにおいて炭酸水素ナトリウム応答を誘発した刺激条件(0.56 ml/min/kg)¹²⁾と同一の条件でイヌにおいて炭酸水素ナトリウム応答の誘発を試みたが、使用した3頭6眼すべてにおいて SP の変化は観察されなかった(図12)。イヌにおいて炭酸水素ナトリウム応答が検出できない説明として、RPE の細胞膜の HCO_3^- に対する透過性がネコやウサギと異なる可能性が考えられる。

今回のイヌ実験モデルを用いることにより、網膜の電気的応答のうちの速い成分である a 波、b 波、OP のみならず比較的緩徐な応答である SNP や極めて緩徐な応答である明上昇および高浸透圧応答までも長期にわたり反復して記録することが可能となった。そして ERG 各応答(光誘発応答)および高浸透圧応答(薬物誘発応答)の網膜内での発生源を念頭においてこれらの電気的応答を指標とすることにより網膜機能を層別に検査することができる。すなわち a 波は主に視細胞に由来する³¹⁾と考えられており、また b 波は主に Müller 細胞に由来する³²⁾と考えられている。OP は後シナプスの網膜神経要素の応答を反映する³³⁾と考えられている。SNP は前述の如くスロー PIII の発生母体である Müller 細胞の活動の指標として利用でき、スロー PIII は b 波とは異なり後シナプスの神経活動の影響を受けない。明上昇は RPE の活動の指標となるが、視細胞や内層網膜の影響を受ける³⁴⁾³⁵⁾。高浸透圧応答は RPE 由来で感覚網膜の影響を受けない¹⁰⁾¹⁴⁾¹⁴²⁾。このイヌ実験モデルを用いてこれから開発される新しい手術手技や眼内で使用される薬剤や代用硝子体などの網膜に対する安全性の評価を行うことが可能である。

結 論

ビーグルイヌ2頭と雑種イヌ33頭において網膜の光誘発応答および薬物誘発応答の記録を試み、また緩徐陰性波(slow negative potential, SNP)の構成要素に関して検討した。

1. イヌでは矩形波刺激光またはキセノン閃光刺激により c 波は観察されず、代わりに矩形波刺激光では c 波と同様の時間経過で角膜側陰性の緩徐な波が記録

された。著者はこの角膜側陰性の波を SNP と命名した。

2. ヨウ素酸ナトリウム静注, グルタミン酸ナトリウム硝子体内注入, 明上昇または硝子体切除術による SNP 振幅の変化を検討することにより, イヌにおいても RPE c 波は存在し, SNP は主に角膜側陰性のスロー PIII と角膜側陽性の RPE c 波より構成され, 角膜側陰性のスロー PIII 振幅が角膜側陽性の RPE c 波振幅を凌駕しているため ERG 上では両者の和として角膜側陰性の波である SNP が記録されることが判明した。スロー PIII 振幅が RPE c 波振幅を凌駕しているため SNP 振幅の変化は RPE c 波振幅の変化に比べスロー PIII 振幅の変化をより大きく反映すると考えられ, スロー PIII が Müller 細胞由来であることより SNP を Müller 細胞機能の指標として用いることが可能である。

3. イヌにおいても20または40ジュールキセノン閃光刺激によりb波上行脚上に重畳する4個の律動様小波(OP)が観察された。イヌのO₁の頂点潜時は10.4±0.6ミリ秒であり, ヒトのO₁頂点潜時14.2±0.36ミリ秒と比べると著しく短かった。

4. 人工瞳孔(直径6mm)付きコンタクトレンズ装着, 刺激光強度100 lux(角膜面), 刺激光持続時間10分の条件下で, イヌの明上昇の頂点潜時は5.2±0.5分, 振幅は1.99±0.81mVであった(雑種イヌ12頭24眼, ビーグルイヌ2頭4眼)。

5. イヌにおいて高浸透圧剤(フルクトマニト^R)を10ml/kg/15minで静注するとSPが減少し, その振幅は1.09±0.58mVであった(雑種イヌ17頭34眼, ビーグルイヌ2頭4眼)。イヌにおいてダイアモックス^R25mg/kgを静注したが, SPの一定した変化は観察されなかった。また1.4%炭酸水素ナトリウムを0.56ml/min/kgで静注したが, SPは変化しなかった。すなわちイヌにおいて高浸透圧応答は記録されたが, ダイアモックス応答および炭酸水素ナトリウム応答は記録されなかった。

6. 本編のイヌ実験モデルを用いることにより, ERGのうち速い成分であるa波, b波, OPのみならず比較的緩徐な電氣的応答であるSNPや極めて緩徐な電氣的応答である明上昇および高浸透圧応答までも長期にわたり反復して記録することが可能となり, これらの電氣的応答を指標とすることにより網膜機能を層別に検査することができる。

謝 辞

稿を終えるに臨み, 終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜り

ました恩師河崎一夫教授に深甚の謝意を捧げます。御助言と御教示を賜りました白尾裕学士に深謝いたします。また本研究に御協力下さいました金子敏行学士, 西村彰学士に感謝いたします。実験器具製作に御協力下さった水野清澄技官に感謝します。

文 献

- 1) Macherer, R., Buettner, H. & Norton, E. W. D.: Vitrectomy, A pars plana approach. Trans. Am. Acad. Ophthalmol. Oto-laryngol., **75**, 813-820 (1971).
- 2) D'amico, D. J.: Intravitreal drug therapy, Clinical considerations and current research, 第92回日本眼科学会総会, 京都, 1988年.
- 3) Piper, H.: Über die Netzhautströme. Arch. Anat. Physiol., Physiol. Abt., Jg. 1911, 85-132 (1911).
- 4) Parry, H. B., Tansley, K. & Thomson, L. C.: The electroretinogram of the dog. J. Physiol., **120**, 28-40 (1953).
- 5) Nilsson, S. E. G., Armstrong, D., Koppang, N., Persson, P. & Milde, K.: Study on the retina and the pigment epithelium in hereditary canine ceroid lipofuscinosis, IV. Changes in the electroretinogram and the standing potential of the eye. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., **24**, 77-84 (1983).
- 6) Dawson, W. W., Webb, A. I., Parmer, R. & Armstrong, D.: The canine c-wave, Breed and anesthetic-dependent variations. Doc. Ophthalmol. Proc. Ser., **37**, 57-64 (1983).
- 7) Steinberg, R. H., Schmidt, R. & Brown, K. T.: Intracellular responses to light from cat pigment epithelium, Origin of the electroretinogram c-wave. Nature, **227**, 728-729 (1970).
- 8) Griff, E. R. & Steinberg, R. H.: Origin of the light peak, In vitro study of Gekko gekko. J. Physiol., **331**, 637-652 (1982).
- 9) Linsenmeier, R. A. & Steinberg, R. H.: A light-evoked interaction of apical and basal membranes of retinal pigment epithelium, C-wave and light peak. J. Neurophysiol., **50**, 136-147 (1983).
- 10) 河崎一夫, 山本幸子, 米村大蔵: 網膜外層の新機能検査法. 日眼会誌, **81**, 1303-1312 (1977).
- 11) 米村大蔵, 河崎一夫, 田辺譲二, 山本幸子: Diamox による眼球電気現象の変化とその臨床応用. 眼紀, **29**, 408-416 (1978).

- 12) 瀬川安則：炭酸水素ナトリウムに対する網膜色素上皮の電気的応答とその臨床応用，I. ネコおよびウサギにおける分析．十全医会誌，**96**，1008-1021 (1987).
- 13) 瀬川安則：炭酸水素ナトリウムに対する網膜色素上皮の電気的応答とその臨床応用，II. 正常眼および病眼における検討．十全医会誌，**96**，1022-1041 (1987).
- 14) 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，I. ヒト，サルおよびイヌにおける分析．日眼会誌，**86**，374-384 (1982).
- 15) 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，II. 正常者における検討．日眼会誌，**86**，385-395 (1982).
- 16) Noell, W. K.: Studies on the electrophysiology and the metabolism of the retina. U. S. Air Force School of Aviation Medicine, Project No.21-1201-0004, Report No.1, 1953.
- 17) 輪島良平：硝子体手術の網膜への影響に関する研究，II. 硝子体切除術の網膜への影響．十全医会誌，**100**，373-392 (1991).
- 18) Weidner, C.: The c-wave in the ERG of albino rat. *Vision Res.*, **16**，753-763 (1976).
- 19) Hamasaki, D. I.: An anatomical and electrophysiological study of the retina of the owl monkey, *Aotes trivirgatus*. *J. Comp. Neurol.*, **130**，163-174 (1967).
- 20) Faber, D. S.: Analysis of the slow transretinal potentials in response to light. Ph. D. dissertation, State University of New York at Buffalo, 1969.
- 21) Griff, E. R., Shirao, Y. & Steinberg, R. H.: Ba²⁺ unmasks K⁺ modulation of the Na⁺-K⁺ pump in the frog RPE. *J. Gen. Physiol.*, **86**，853-876 (1985).
- 22) 米村大蔵，河崎一夫，芳野佳克，柳田 隆：生体眼 ERG における受容器電位の分離．日眼会誌，**78**，858-866 (1974).
- 23) Nao-i, N., Kim, S. & Honda, Y.: Paradoxical enhancement of the ERG c-wave by a small dose of sodium iodate. *Acta Ophthalmol.*, **64**，206-211 (1986).
- 24) Nilsson, S. E. G., Knave, B. & Persson, H. E.: Changes in ultrastructure and function of the sheep pigment epithelium and retina induced by sodium iodate, II. Early effects. *Acta Ophthalmol.*, **55**，1007-1025 (1977).
- 25) Steinberg, R. H., Linsenmeier, R. A. & Griff, E. R.: Retinal pigment epithelial cell contributions to the electroretinogram and electro-oculogram. In N. N. Osborne & G. J. Chader (eds.), *Progress In Retinal Research*, 1st ed., Vol. 4, p33-66, Pergamon Press, New York, 1985.
- 26) Calissendorff, B., Knave, B. & Persson, H. E.: Cyclic variations in the c-wave amplitude of the sheep ERG. *Vision Res.*, **14**，1141-1145 (1974).
- 27) Skoog, K. -O. & Nilsson, S. E. G.: The c-wave of the human D. C. registered ERG, II. Cyclic variation of the c-wave amplitude. *Acta Ophthalmol.*, **52**，904-912 (1974).
- 28) Nilsson, S. E. G. & Skoog, K. -O.: Covariation of the simultaneously recorded c-wave and standing potential of the human eye. *Acta Ophthalmol.*, **53**，721-730 (1975).
- 29) Täumer, R., Wichmann, W., Rohde, N. & Röver, J.: ERG of humans without c-wave. *Albrecht Von Graefes Arch. Klin. Exp. Ophthalmol.*, **198**，275-289 (1976).
- 30) Marmor, M. F. & Lurie, M.: Light-induced responses of the retinal pigment epithelium. In K. M. Zinn & M. F. Marmor (eds.), *The Retinal Pigment Epithelium*, 1st ed., p226-244, Pergamon Press, Oxford, 1985.
- 31) Brown, K. T. & Wiesel, T. N.: Localization of origins of electroretinogram components by intraretinal recording in the intact cat eye. *J. Physiol.*, **158**，257-280 (1961).
- 32) Miller, R. F. & Dowling, J. E.: Intracellular responses of the Müller (Glial) cells of Mudpuppy retina. Their relation to b-wave of the electroretinogram. *J. Neurophysiol.*, **33**，323-341 (1970).
- 33) Yonemura, D. & Kawasaki, K.: New approaches to ophthalmic electrodiagnosis by retinal oscillatory potential, drug-induced responses from retinal pigment epithelium and cone potential. *Doc. Ophthalmol.*, **48**，163-222 (1979).
- 34) 柳田 隆，小清水正人，河崎一夫，米村大蔵：微小電極による網膜電図の分析，律動様小波．日眼会誌，**90**，1014-1017 (1986).
- 35) 米村大蔵，河崎一夫：律動様小波とその臨床．眼科 Mook 14 眼と電気生理 (三島濟一，塚原勇，植村

恭夫編), 第1版, 59-70頁, 金原出版, 東京, 1980.

36) 真館幸子: サル light rise におよぼす sodium aspartate および monoiodoacetic acid の影響. 日眼会誌, 84, 607-616 (1980).

37) Gouras, P. & Carr, R. E.: Light-induced DC responses of monkey retina before and after central retinal artery interruption. Invest. Ophthalmol., 4, 310-317 (1965).

38) 米村大蔵, 河崎一夫, 白倉弘子, 柳田 隆, 山本幸子: 網膜中心動脈閉塞症の ERG と EOG. 日眼会誌, 81, 323-329 (1977).

39) Oakley, B. II & Green, D. G.: Correlation of light-induced changes in retinal extracellular potassium concentration with c-wave of the electroretinogram. J. Neurophysiol., 39, 1117-1133 (1976).

40) 米村大蔵, 向 茂雄, 藤井 茂, 瀬川安則: ネコとウサギの高浸透圧応答について. 眼臨, 80, 130 (1986).

41) 向 茂雄: 高浸透圧負荷に対する網膜色素上皮の電気的応答. 日眼会誌, 89, 482-497 (1985).

42) Shirao, Y. & Steinberg, R. H.: Mechanisms of effects of small hyperosmotic gradients on the chick RPE. Invest. Ophthalmol. & Visual Sci., 28, 2015-2025 (1987).

43) 西 麗子: 眼球内酵素の組織学的研究. I. 白色家兎, マウス, ラット眼球における炭酸脱水酵素の検討およびステロイド緑内障家兎の酵素組織化学的検討. 日眼会誌, 81, 1019-1029 (1977).

44) Wistrand, P. J.: Carbonic anhydrase in the anterior uvea of the rabbit. Acta Physiol. Scand., 24, 144-148 (1951).

45) 河崎一夫, 米村大蔵, 田辺謙二, 山本幸子, 川口博治, 仲里博彦: 網膜色素上皮の薬物誘発電位とその臨床応用. 眼紀, 30, 116-124 (1979).

46) 米村大蔵, 河崎一夫: EOG. 臨床網膜電図学, 第1版, 131-146頁, 医学書院, 東京, 1985.

Effects of Vitreous Surgery on the Retina. (I) Basic Study of the Canine ERG-a New Methodology to Estimate Retinal Integrity Ryohei Wajima, Department of Ophthalmology, Kanazawa University School of Medicine, Kanazawa 920—J. Juzen Med. Soc., **100**, 352—372 (1991)

Key words electroretinogram, dog, c-wave, standing potential, hyperosmolarity response

Abstract

The electroretinogram (ERG) and the drug-induced responses from retinal pigment epithelium (RPE) were studied in two beagle dogs and 33 mixed breed dogs, to establish the standard waveforms of these responses in the dog. Artificial respiration aided by the use of a muscle relaxant was established to facilitate a reproducible and stable recording of the responses. The dogs showed the a-wave, the b-wave, the oscillatory potential and the light rise but no c-wave in response to photic stimuli. A cornea-negative potential, which was similar in time course but opposite in polarity to the conventional c-wave, was observed, and was designated as the slow negative potential (SNP). The present study shows that the SNP consists mainly of the large cornea-negative slow P III originating in the Müller cell and the small cornea-positive RPE c-wave originating in the RPE. Since the slow P III is the major constituent of the SNP, presumably the SNP changes depend predominantly on the slow P III. Therefore, the SNP can serve as an index of Müller cell integrity. The ocular standing potential decreased in response to an intravenous injection of a hypertonic solution (Fructmanit[®], Taiho Co., Osaka) (10 ml/kg/15 min), but did not change in response to sodium acetazolamide (Diamox[®], Lederle Japan, Tokyo) (25 mg/kg) or 1.4% NaHCO₃ (0.56 ml/min/kg). Therefore, in the dog, out of the three known drug-induced responses from the RPE, only the hyperosmolarity response is available as an indicator of the RPE integrity. The methodology in the present study allows stable recording of not only the fast responses such as the a-wave, the b-wave and the oscillatory potential but also relatively slow responses such as the SNP, and more prolonged responses such as the light rise and the hyperosmolarity response, offering a layer-by-layer electrodiagnosis of the neural retina-RPE complex.