

## ウサギの明・暗順応におけるERG及びVEP

竹内 崇\*・七條喜一郎\*・鈴木 實\*・福西克弘\*\*・斎藤俊之\*\*\*

### Electroretinograms and Visual Evoked potentials during Dark and Light Adaptations in Rabbits

Takashi TAKEUCHI\*, Kiitiro SITIZYO\*, Minoru SUZUKI\*  
Katsuhiko FUKUNISHI\*\* and Toshiyuki SAITO\*\*\*

Electroretinograms (ERGs) and visual evoked potentials (VEPs) were recorded from ten rabbits. The recording sessions were divided into three adapting conditions: 1) flash lights were given with the surrounding dark after 15 minutes of dark adaptation (dark), 2) flash lights were given with the surrounding dark after 15 minutes of light adaptation (B-D), 3) flash lights were given with the surrounding illumination after 15 minutes of light adaptation (B-L). The latency of b-wave recorded in the B-L session was significantly shorter than that in the dark session. The amplitudes of a-wave and b-wave recorded in the B-L session were significantly lower than those in the dark session. The latency and amplitude of the ERG recorded in the B-D session were similar to those in the dark session.

Similar results were obtained in the VEPs recorded in three adapting conditions. These findings suggest that the ERG and VEP were closely associated and influenced by the dark adaptation, light adaptation and surrounding illumination.

#### 緒 言

網膜の視細胞は桿体及び錐体で構成されているが、その比率は動物種によって異なっている。夜行性の動物では視細胞のほとんどが桿体で占められるが、昼行性動物

では桿体と錐体の両細胞で構成される、いわゆる混合網膜である<sup>16)</sup>。これらの視細胞の興奮にはじまり、網膜に発生する一連の電位変動を記録したものが網膜電図 (Electroretinogram, ERG) であり、網膜からの入力 が視覚経路を介して大脳皮質視覚野へ達して起こる電位

\*鳥取大学農学部獣医学科家畜生理学講座

\*Department of Veterinary Physiology, Faculty of Agriculture, Tottori University

\*\*鐘紡(株)

\*\*kanebo Co. Ltd.

\*\*\*鳥取大学農学部獣医学科家畜薬理学講座

\*\*\*Department of Veterinary Pharmacology, Faculty of Agriculture, Tottori University

変動を記録したものが視覚誘発電位 (Visual evoked potential, VEP) である。ERG及びVEPは動物の視覚機能を知るために最も適した計測方法であり、動物臨床への応用が望まれる。

著者らは、比較生理学的並びに臨床応用のための基礎的研究の一環として、先にウシ<sup>15)</sup>、イヌ<sup>12,13)</sup>、ウサギ<sup>8,9,14)</sup>、モルモット<sup>10,11)</sup>のVEP及びERG測定条件(刺激条件、導出法)及び成長に伴う変化について報告した。今回は、VEP及びERG測定における暗順応及び明順応の影響を検討するとともに、光刺激時の周囲の照明が及ぼす影響についても検討した。

### 実験方法

実験には、日本白色種、雄のウサギ(体重2.5~3.9kg)10羽を供試した。ERG測定にはコンタクトレンズ電極(京都コンタクトレンズ製)を使用し、電極装着前に0.4%オキシプロカイン(参天製薬, Benoxil)の点眼による角膜の表面麻酔を行った。基準電極(N)及び接地電極(G)にはステンレス製針電極を使用し、鼻背部及び外側後頭隆起部の皮下にそれぞれ刺入した。

VEP測定にはすべてステンレス製針電極を使用した。探査電極を左右後頭(LO, RO)及び頭頂(V)の3点に、基準電極を鼻背部(N)に、接地電極(G)を外側後頭隆起部にそれぞれ装着した。なお、針電極の装着に際しては、装着部位に1%塩化リドカイン(藤沢薬品工業, Xylocaine)を少量皮下注射した。また、いずれの測定においても、散瞳を目的とした薬物の投与は行わなかった。

測定は遮光したシールドルーム内にて行い、動物の光に対する順応は次の3種類とした。①暗順応(dark): 遮光した測定室内にて動物を15分間安静にした後、光刺激を行った。②明順応-background dark(B-D): 照明を点灯した測定室内(約250 lux)にて動物を15分間順応させた後、消灯(遮光状態)して光刺激を行った。③明順応-background light(B-L): ②と同様に順応させた後、同一の照明下で光刺激を行った。

光刺激にはウサギの眼前20cmに置いた脳波計付属のストロボライトを用い、両眼同時刺激を行った。ERG測定では単一の光刺激を行ったが、VEP測定では0.5Hzの頻度で5分間連続して刺激を行った。なお、ストロボライトの刺激強度は0.5Jである。

ERGの記録にはオシロスコープ(三栄測器製, 2137)を使用した。記録時の時定数は0.3秒、感度は50  $\mu$ V/divまたは100  $\mu$ V/divとし、high cut filterを100Hzに設

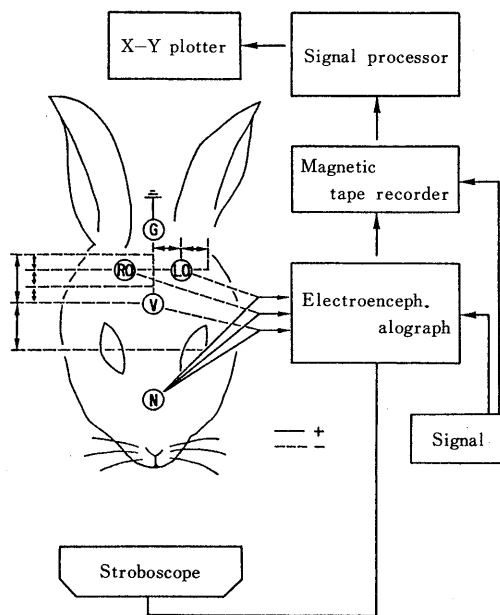


Fig.1 Electrode placements and method of measurement in VEP

定した。掃引は10msec/divにて行い、単一の反応波をポラロイドカメラで撮影した。なお、反応波の極性は電気的陽性が上向きとなるようにした。

VEPの記録には脳波計(三栄測器製, 1A52)を使用し、単極3導出について用紙への記録と同時に磁気テープ(Sony, SIT 90F)にも記録した(Fig.1)。記録時の時定数は0.3秒、感度は100  $\mu$ V/5mmとし、high cut filterを60Hzに設定した。紙送り速度は3.0cm/secあるいは0.3cm/secとして記録した。

磁気テープに記録した反応波は、シグナルプロセッサ(三栄測器製, 7T08)にて140回加算平均処理し、VEP波形を求めた。得られたVEP波形は、X-Y recorder(三栄測器製, 8U11)にて上向きの振れが電気的陰性となるように記録した。

記録したERG及びVEP波形について、ピーク潜時及び振幅を求め、それぞれのデータについても検定による統計学的解析を行った。

### 実験成績

#### 1. ERGについて

##### 1) ERG波形について

DarkにおけるERG波形では約18msecの潜時で陰性の

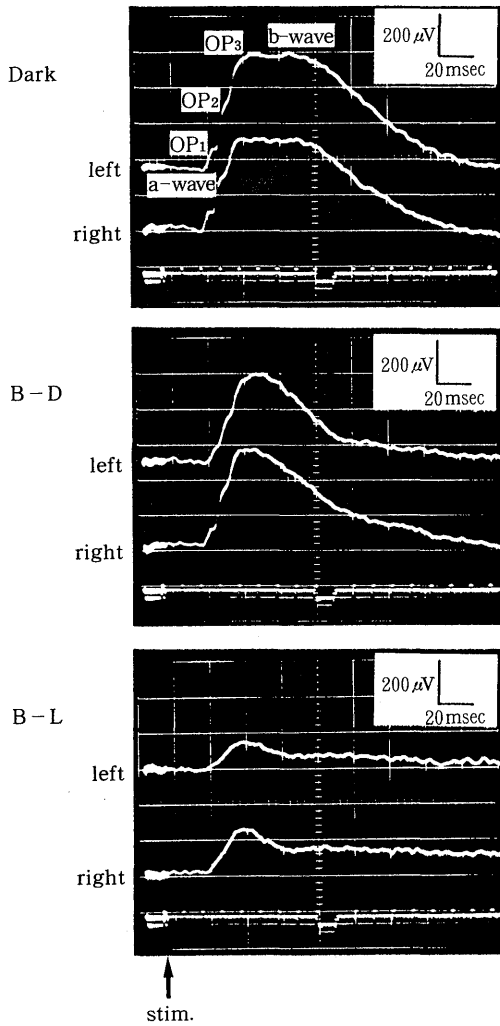


Fig.2 Comparison of dark adapted and light adapted ERGs

a波が出現し、約50msecの潜時で陽性のb波が出現した (Fig.2)。また、b波に重畳して3つの律動様小波 (oscillatory potential, OP<sub>1</sub>, OP<sub>2</sub>, OP<sub>3</sub>) が認められた。

B-Dにおいてもdarkと同様に、a波、b波及びOPが出現したが、darkのERGに比べてb波の振幅はやや低下し、b波のピークを過ぎた後は比較的速やかに基線に復した。

B-Lではa波、b波ともに前二者に比べて著しく低振幅であり、b波のピークを過ぎた後は速やかに基線に復した。また、OPはほとんど認められなかった。

2) ERGの潜時について

Fig.3は、a波及びb波のピーク潜時を示したものである。a波のピーク潜時は各順応状態において約17~18 msecであり、ほぼ一定した値を示した。一方、b波のピーク潜時についてみると、darkでの平均値は49.1 msecであるのに対してB-Dでは45.5msecとやや低値を示した。また、B-Lでは42.3msecであり、darkに比べて有意 (P<0.05) に短縮した。

3) ERGの振幅について

ERGの振幅の求め方は、下河内<sup>6)</sup>の勧告基準に従い、a波の振幅は基線からピークまでとし、b波の振幅はa波のピークからb波のピークまでとした。Fig. 4は、a波及びb波の振幅を示したものである。各順応条件に

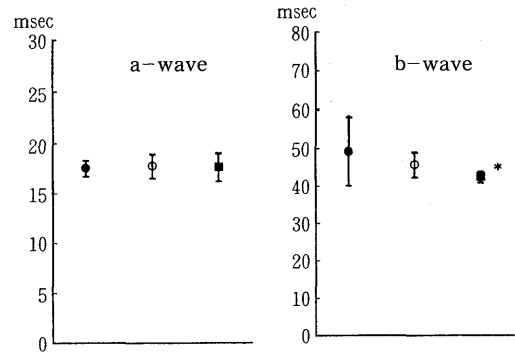


Fig.3 Comparison of peak latencies in the dark adapted and light adapted ERGs. Mean±S. D. (n=10)  
●; dark, ○; B-D, ■; B-L  
\*; significantly different vs. dark adapted ERG at p<0.05

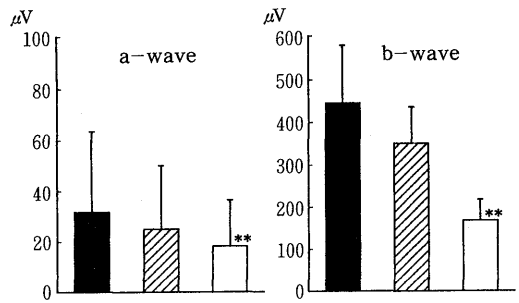


Fig.4 Comparison of amplitudes in the dark adapted and light adapted ERGs. Mean±S. D. (n=10)  
■; dark, ▨; B-D, □; B-L  
\*\* ; significantly different vs. dark adapted ERG at p<0.01

におけるa波の振幅の平均値は、darkでは $31.8 \mu V$ であるのに対して、B-Dでは $25.1 \mu V$ とやや低値を示した。また、B-Lにおけるa波の振幅は $18.2 \mu V$ であり、darkに比べて有意 ( $P < 0.01$ ) に低値を示した。

b波の振幅においてもa波と同様の傾向がみられ、B-Dではdarkに比べてやや低値を示し、B-Lではdarkに比べて有意 ( $P < 0.01$ ) に低値であった。

#### 4) OPについて

DarkあるいはB-Dにおいて記録したERGには3個のOPがみられたが、それらの出現頻度についてみると、darkではOP<sub>1</sub>が全10例に、OP<sub>2</sub>及びOP<sub>3</sub>が各6例に認められた。B-Dでは、OP<sub>1</sub>が9例に、OP<sub>2</sub>が6例に、OP<sub>3</sub>が7例に認められた。このように、OP<sub>1</sub>はOP<sub>2</sub>及びOP<sub>3</sub>に比べて高い出現頻度を示した。一方、B-LではOPがほとんど認められず、そのいずれも低振幅かつ不明瞭であった。これらOPの潜時は、B-Dではdarkに比べて有意に延長する傾向がみられた (Fig.5)。

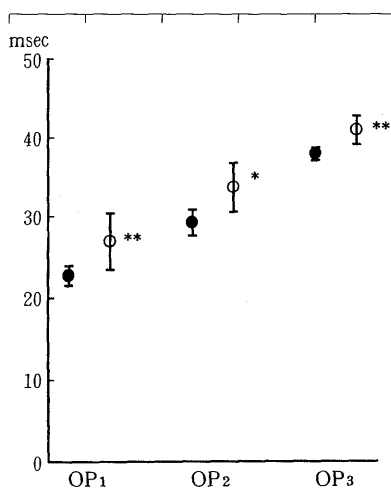


Fig.5 Comparison of peak latencies oscillatory potential in the dark adapted and light adapted ERGs. Mean  $\pm$  S. D. ●; dark, ○; B-D \*, \*\*; significantly different vs. dark adapted ERG at  $p < 0.05$  and  $p < 0.01$

## 2. VEPについて

### 1) VEP波形

光刺激後512msecまでの反応後についてみると、4個の陰性ピーク (N<sub>20</sub>, N<sub>40</sub>, N<sub>70</sub>及びN<sub>150</sub>) 及び5個の

陽性ピーク (P<sub>10</sub>, P<sub>30</sub>, P<sub>60</sub>, P<sub>80</sub>及びP<sub>240</sub>) が認められた (Fig.6)。各順応状態におけるVEP波形を比較すると、N<sub>40</sub>を中心とする短潜時成分では、darkとB-Dでは差がみられず、ほぼ同様の波形が記録された。これに対して、B-Lでは各ピークとも低振幅の傾向であった。また、N<sub>150</sub>を中心とする長潜時成分では、dark及びB-Lにおいて高振幅の波形が記録されたのに対して、

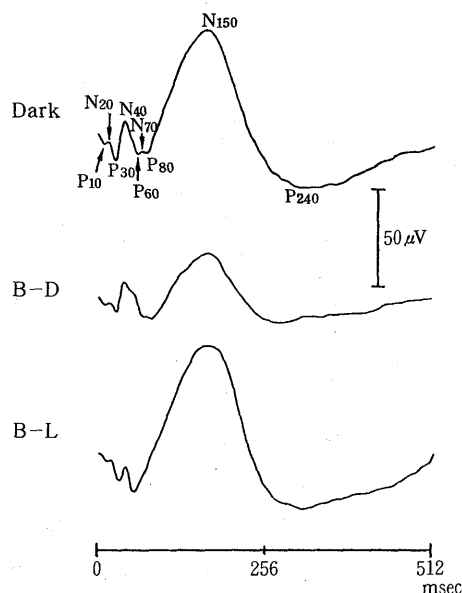


Fig.6 Dark adapted and light adapted VEP wave forms in rabbit

B-Dではやや低振幅であった。

### 2) VEPのピーク出現頻度

Table 1 に各順応状態におけるVEPのピーク出現頻度を示した。いずれの順応状態においても、P<sub>30</sub>, N<sub>40</sub>, P<sub>60</sub>, N<sub>150</sub>, 及びP<sub>240</sub>はほぼ全例に出現した。しかし、N<sub>70</sub>及びP<sub>80</sub>の出現頻度は低く、特にdark及びB-Dではその傾向が強かった。

左右後頭の導出channel間では出現頻度に明かな差異は認められなかったが、V-Nの導出channelでは、左右後頭に比べてやや出現率が低下する傾向にあった。

### 3) VEPのピーク潜時

各順応状態におけるVEPのピーク潜時をFig. 7に示した。B-LにおけるN<sub>20</sub>及びP<sub>60</sub>のピーク潜時はdarkに比べて有意に低値を示したが、その他のピーク潜時は順応条件の違いによる明かな差異は認められなかった。また、導出channel間においても明かな差異は認められなかった。

Table 1 Probabilities in peak appearances of dark adapted and light adapted VEPs in rabbits.

Lead	Adaptation	Peak								
		P <sub>10</sub>	N <sub>20</sub>	P <sub>30</sub>	N <sub>40</sub>	P <sub>60</sub>	N <sub>70</sub>	P <sub>80</sub>	N <sub>150</sub>	P <sub>240</sub>
LO-N	Dark	8	8	10	10	10	3	3	10	10
	B-D	6	7	10	10	10	5	5	10	9
	B-L	8	8	10	10	10	8	8	10	10
RO-N	Dark	10	10	10	10	10	3	3	10	10
	B-D	7	8	10	10	10	4	4	10	8
	B-L	8	9	9	9	10	8	8	10	10
V-N	Dark	8	7	9	10	9	3	4	10	10
	B-D	7	8	10	10	10	5	5	10	8
	B-L	7	6	6	8	10	8	8	10	10

Data are indicate number of peak appearance in ten rabbits.

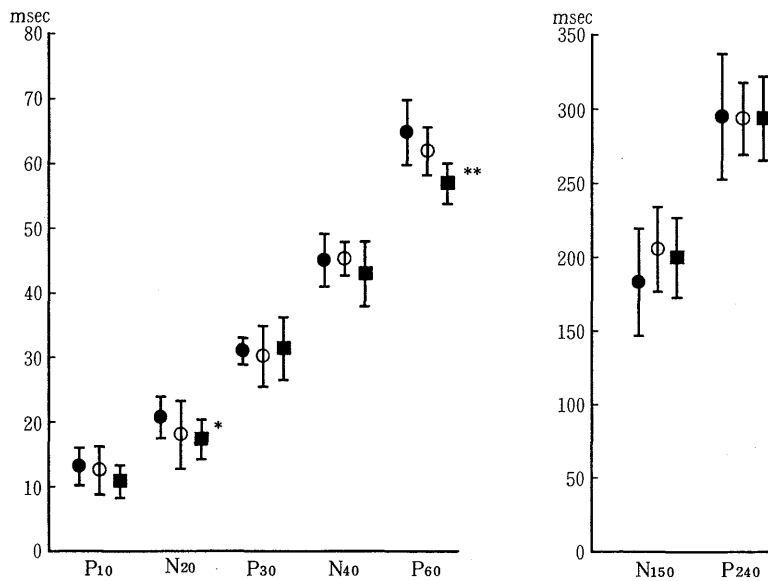


Fig. 7 Comparison of peak latencies in the dark adapted and light adapted VEPs. Mean±S.D.  
 ●; dark, ○; B-D, ■; B-L  
 \*,\*\*; significantly different vs. dark adapted VEP at p<0.05 and p<0.01

4) VEPのピーク間振幅

9個のピークのうち、短潜時成分及び長潜時成分の主要な陰性ピークであるN<sub>40</sub>及びN<sub>150</sub>について、前陽性ピークからのピーク間振幅P<sub>30</sub>-N<sub>40</sub>及びP<sub>80</sub>-N<sub>150</sub>を求め、

各順応状態について比較検討した (Fig. 8)。

P<sub>30</sub>-N<sub>40</sub>の平均値は、darkで18.3 μVであるのに対して、B-Dでは17.0 μVとやや低値を示した。また、B-Lでは9.3 μVであり、darkに比べて有意 (P <

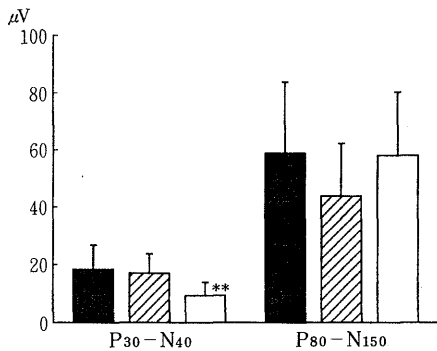


Fig. 8 Comparison of peak-to-peak amplitudes in the dark adapted and light adapted VEPs. Mean  $\pm$  S. D. (n=10) ■; dark, ▨; B-D, □; B-L \*\*; significantly different vs. dark adapted VEP at  $p < 0.01$

0.01) に低値を示した。

P<sub>80</sub>-N<sub>150</sub>の平均値は、darkで58.8  $\mu$ V、B-Lでは57.9  $\mu$ Vであったが、B-Dでは43.6  $\mu$ Vとやや低値を示した。しかし、統計学的な有意差は認められなかった。

V-N 導出channelにおけるピーク間振幅は、短潜時、長潜時成分ともにLO-N、RO-Nの導出channelに比べてやや低値を示した。

## 考 察

### 1. ERGについて

ウサギの網膜における視細胞は杆体と錐体で構成される、いわゆる混合網膜であるため、ウサギを遮光状態に置いた場合には杆体の機能が優勢となり、逆に照明下に置くと錐体の機能が優勢となる<sup>17)</sup>。一般に暗順応状態において白色光の刺激により得られたERGはscotopic ERGと呼ばれ、杆体の機能を反映する。また、明順応状態において赤色光で刺激した場合にはphotopic ERGと呼ばれ、錐体の機能を反映するERGが得られることが知られている<sup>20,21)</sup>。

本実験のdarkで記録したERG波形は400  $\mu$ Vを越える高振幅のb波が記録され、先人<sup>20,21)</sup>の述べたヒトのscotopic ERGに相当するものと思われた。

本実験のB-LにおけるERGはa波及びb波ともに低振幅であった。この明順応におけるERGは、先人<sup>20)</sup>の報告によるphotopic ERGに相当するものと考えられるが、本実験の結果はヒトのそれと異なっていた。すなわち、渡辺と三宅<sup>20)</sup>はヒトのphotopic ERGはa波が明瞭で

あると述べている。この相違は、渡辺と三宅は赤色光による刺激を行っているのに対して、本実験の光刺激は白色光を使用したため、錐体のみでなく杆体の電位変動も同時に記録されているのかも知れず、この点については今後さらに検討したいと考えている。

またB-Dでは、darkと同様に高振幅のb波が記録された。しかし、b波のピークに達した電位は比較的速やかに減衰し基線に復した。このことは、b波の発生起源<sup>17,20)</sup>とされる双極細胞層の興奮が暗順応と明順応で異なることを示唆している。また、双極細胞の興奮は視細胞の興奮によって引き起こされるものであることから、順応状態の変化に伴う視細胞の機能的変化が双極細胞の興奮に影響しているものと考えられる。

本実験では、B-DとB-LでERGの振幅に著しい差異がみられた。V<sub>AEGAN</sub><sup>19)</sup>はウサギのERGについて、刺激時の周囲の照度が減少するにしたがってb波の振幅が増加すると報告し、この場合、十分に強い光刺激を与えると反応が飽和状態となり、振幅はそれ以上に増加しないと報告した。このV<sub>AEGAN</sub>の報告と本実験結果を考え合わせると、刺激強度の増加あるいは周囲の照度を減少させることは刺激の変化率を増すことになり、結果的にERGは高振幅を示すものと思われた。

本実験で記録されたOPはdark及びB-Dの場合に出現し、B-Lではほとんど認められなかった。OPの起源は未だ明確にはされていないが、錐体、杆体及びアマクリン細胞などの機能によることが指摘されており<sup>4,7)</sup>、また刺激強度もOPの発生に影響することが知られている<sup>4,5,7,18)</sup>。本実験においてもdarkではB-Dに比べてOPの潜時が短縮したことから、OPの発現には網膜の順応状態及び刺激強度が大きく関与するものと思われた。

### 2. VEPについて

VEPは受容器である網膜に起こった興奮が視覚経路を介して大脳皮質視覚野へ伝わり、その電位変動を頭皮上から記録したものである<sup>1-3)</sup>。したがって、網膜の電気活動が大きく関与するため、その順応状態によってVEPも変化するものと考えられる。

本実験におけるdarkとB-Lで記録されたVEPを比較すると、B-Lでは短潜時成分のピーク間振幅が著しく減少した。このような振幅低下はERGのb波と同様の变化であることから、網膜の順応状態に大きく影響されているものと考えられた。これに対して、VEPの長潜時成分はdarkとB-Lではほぼ同様の振幅がみられた。一般に、VEPの短潜時成分は視覚特殊系を介して大脳皮質へ達するのに対して、長潜時成分は非特殊系を介す

るといわれている<sup>3)</sup>。したがって、本実験の各順応状態で記録されたVEP波形が成分ごとに異なる変化を示すことは、中枢への視覚経路及び皮質上の電位分布の違いに関係するものと考えられる。

また、B-Dで記録されたVEPの短潜時成分はdarkのものとはほぼ同様の振幅であった。このような現象についてYONEMURA and TSHUCHIDA<sup>22)</sup>は、ウサギに強い光刺激を与えた場合に記録されるshort latency discharge (SLD)について検討し、あるレベル以上の強度で刺激した場合SLDは一定の振幅を示すことを報告している。また、光刺激強度及び周囲の照度を変えた場合のERGについて検討したVAEGAN<sup>19)</sup>の報告においても周囲の照度と刺激光とのコントラストが光刺激に対する反応に大きな影響を及ぼすことが指摘されている。したがって、本実験の明順応状態での2つの刺激方法において、B-Dの方がB-Lに比べてより大きな振幅を示したことは、ERGの変化と同様に刺激時の周囲の照度とのコントラストに起因するものと思われた。

Darkにおいて記録されたERG及びVEPの振幅をそれぞれ100%とした場合の、B-D及びB-Lの振幅を比較すると、B-DでのERGはa波が78%、b波が78%であるのに対して、B-Lではa波が57%、b波が37%であった。同様にVEPについてもピーク間振幅P<sub>30</sub>-N<sub>40</sub>を比較すると、B-Dでは92%、B-Lでは50%であった。すなわち、各順応状態におけるERGとVEPの振幅の変化は類似していることから、順応状態を変えた場合のVEPは網膜の反応に大きく影響されていることが推察された。

### 総括及び結論

ERG及びVEPの臨床応用に関する基礎的実験として、ウサギを用いて順応状態の違いにおけるERG及びVEPについて検討した。その結果、B-LにおけるERGのb波のピーク潜時はdarkのそれに比べて有意に短縮し、振幅は有意に減少する傾向がみられた。同様にB-Lで記録したVEPではピーク潜時に顕著な変化はみられなかったが、短潜時成分の振幅はdarkのそれに比べて有意に減少した。また、B-Dで記録したERG及びVEPはdarkのそれとほぼ同様であった。

以上のように、各順応状態で記録したVEPはERGとほぼ同様の変化を示したことから、VEPは網膜の順応状態及び光刺激時の周囲とのコントラストに大きく影響されるものと考えられた。

### 参考文献

- 1) 石川亀一：機能的脳波学。稲永和豊編，医歯薬出版，東京（1967）pp.197-216
- 2) 岩瀬善彦：生理学大系V. 脳の生理学。時実利彦編，医学書院，東京（1967）pp.25-54
- 3) 加藤元博：臨床神経学と大脳誘発電位（I）。臨床脳波，16 442-448（1974）
- 4) King-Smith, P.E., Loffing, D.H. and Jones, R. : Rod and cone ERGs and their oscillatory potentials. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 27 270-273（1986）
- 5) 升田義次：家兎ERGの律動様小波について。日眼会誌，65 113-124（1961）
- 6) 下河内稔：誘発電位の臨床検査指針 [3]。臨床脳波，30 627-633（1988）
- 7) Sims, M.H. and Brooks, D.E. : Changes in oscillatory potentials in the canine electretinogram during dark adaptation. *Am. J. Vet. Res.*, 51 1580-1586（1990）
- 8) 七條喜一郎，鈴木 實，竹内 崇，斎藤俊之：頭皮上並びに脳硬膜上からの導出によるウサギのVEP。日生理誌，55 456-463（1993）
- 9) 七條喜一郎，竹内 崇，鈴木 實，吉田 勝，田中成彦，斎藤俊之：規則的の刺激及び不規則的の刺激によるウサギのVEP。鳥大農研報，46 157-161（1993）
- 10) Suzuki, M., Sitizyo, K., Takeuchi, T. and Saito, T. : Visual evoked potential from scalp in guinea pigs. *J. Vet. Med. Sci.*, 53 301-305（1991）
- 11) Suzuki, M., Sitizyo, K., Takeuchi, T. and Saito, T. : Changes in the visual evoked potentials with different photic conditions in guinea pigs. *J. Vet. Med. Sci.*, 53 911-915（1991）
- 12) Suzuki, M., Sitizyo, K., Takeuchi, T. Ishida, H. and Baba, A. : Visual evoked potentials from scalp in dogs. *J. Fac. Agric., Tottori Univ.*, 27 37-41（1991）
- 13) 鈴木 實，七條喜一郎，竹内 崇，福西克弘，吉川克郎，吉田 勝，斎藤俊之：イヌのERG測定に関する基礎的研究，鳥大農研報，46 151-155（1993）
- 14) 竹内 崇，七條喜一郎，鈴木 實，吉田 勝，藤岡

- 美智, 土田拓史, 斎藤俊之: ウサギのERG測定における基準電極部位及びtropicamideの影響. 鳥大農研報, 46 163-168 (1993)
- 15) Takeuchi, T., Suzuki, M., Sitizyo, K. and Saito, T. : Postnatal development of visual evoked potentials in Japanese Black calves. *Jpn. J. Physiol.*, 43 809-815 (1993)
- 16) 田崎京二: 新生理学. 上巻. 問田直幹, 内蘭耕二, 伊藤正男, 富田忠雄編, 医学書院, 東京 (1998) pp.916-954
- 17) 富田恒男, 渡辺宏助: 生理学大系VI. 感覚の生理学. 勝木保次編, 医学書院, 東京 (1967) pp.275-333
- 18) Usami, E. and Van Hof, M. W. : Oscillatory potentials in the ERG of the guinea pig. 日眼会誌, 72 78-82 (1968)
- 19) Vaegan : Electroretinograms and pattern electroretinograms of pigmented and albino rabbits. *Clin. Vision Sci.*, 7 305-311 (1992)
- 20) 渡辺郁緒, 三宅養三: ERG, EOGの臨床, 医学書院, 東京 (1984) pp.2-28
- 21) 米村大蔵: 生理学大系VI. 感覚の生理学. 勝木保次編, 医学書院, 東京 (1967) pp.334-354
- 22) Yonemura, D and Tsuchida, Y: The short latency discharge of high light-threshold in the rabbit optic nerve. *Jpn. J. Physiol.*, 18 703-722 (1968)