

イヌのERG測定に関する基礎的研究

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*****

Basic Study of Electroretinograms (ERGs) in Dogs

Minoru SUZUKI*, Kiitiro SITIZYO*, Takashi TAKEUCHI*,
Katsuhiro FUKUNISHI**, Katsuro KIKKAWA***, Masaru YOSHIDA****
and Toshiyuki SAITO*****

Electroretinograms (ERGs) were obtained from five adult mongrel dogs. The ERGs were recorded by two kinds of resinous contact lens electrodes with a curvature of 8mm radius. The contact lens electrodes consisted of single gold ring (only inner ring: type A) or double gold rings (inner and outer rings: type B). The inner ring was in contact with the cornea and served as an exploring electrode. The outer ring touched the palpebral conjunctiva and served as a reference electrode.

The ERG recorded by the type A electrode consisted of an a-wave (10-20 μ V) and a b-wave (270 μ V). The ERG recorded by the type B electrode apparently consisted of low amplitude waves. The peak latencies of the a-wave and the b-wave were similar between the ERGs by the type A and type B electrodes. As described above, a stable high amplitude b-wave was recorded by the type A electrode. When using the type B electrode, it is necessary to keep a good contact between the contact lens electrode and cornea.

-
- * 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.*
*** 和歌山県養鶏試験場
*** *Poultry Institute, Wakayama Prefecture*
**** 日本新薬(株)
**** *Nippon shinyaku 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*

緒 言

網膜電図 (Electroretinogram, ERG) は、網膜に光を当てた時に網膜視細胞層から神経線維層に向かって流れる電流を記録したものである^{15,17)}。ERGは視覚誘発電位 (Visual evoked potential, VEP) とともに、視覚機能を客観的に判定するための有用な情報を与え、動物臨床に応用されることが望まれる。近年、イヌのERGに関する基礎的研究^{3,7,9,10)}は進められているが、臨床応用した報告は少なく¹⁾、早急に基準値を設定することが必要となっている。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、イヌ¹²⁾及びモルモット^{11,13,14)}のVEPに関してはすでに報告した。今回、イヌのERG測定に関する基礎的研究として、角膜上に置いたコンタクトレンズ電極の種類による影響を比較検討したので報告する。

実験方法

実験には、雑種、雄の成犬5頭 (体重9.0~11.0kg) を供試した。動物に体重1kg当たり5mgの塩酸クロルプロマジン (吉富製薬, Contomin) を筋肉内注射し、鎮静が得られた後に保定台にて腹臥位に保定した。

ERGの導出には、Fig.1に示した二種のコンタクトレンズ電極 (京都コンタクトレンズ製, AE型) を用いた。すなわち、コンタクトレンズに探査電極のみ組み込まれたもの (type A)、及び探査電極並びに基準電極が組み込まれているもの (type B) を使用した。Type A及びtype Bともにレンズ直径は20mm、内面曲率半径は8mmである。電極部は24金を使用し、Type Aのコンタクトレンズ電極では、内面に一重の金環があり、これが探査電

極となって、角膜に接触するように作られている。また、type Bのコンタクトレンズ電極は、内面に二重の金環があり、内側の環は探査電極に、外側の環は基準電極となり、それぞれ角膜及び結膜に接触するように作られている。

Type Aのコンタクトレンズ電極によりERGを導出する場合には、鼻背部に1%塩酸リドカイン (藤沢薬品工業, Xylocaine) を少量皮下注射した後に、ステンレス製針電極を刺入し、基準電極とした。また、いずれの導出においても接地電極は外側後頭隆起部に装着した。

コンタクトレンズ電極の眼球への装着に際しては、装着前に0.4%オキシブプロカイン (参天製薬, Benoxil) を1滴点眼し、角膜の表面麻酔を行った。また、角膜との良好な接触を保つために、滅菌した生理食塩水をコンタクトレンズ電極に満たして眼球への装着を行った。電極装着後、動物を15分間の遮光状態に置き、ERG測定を開始した。

ERG測定は、シールドルーム内にて行い、光刺激には動物の眼前20cmに置いた脳波計付属のストロボライトを使用し、単発の刺激を行った。この場合のストロボライトの刺激強度は0.5Jである。

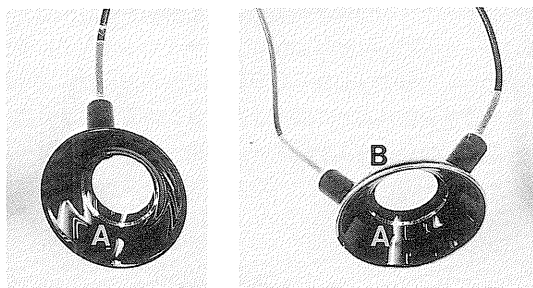
ERGの記録には、オシロスコープ (三栄測器, 2137) を使用し、時定数を0.3sec、掃引時間を200msec、感度を100 μ V/divとした。なお、極性は電気的陽性を上向きとし、ポラロイドカメラにて単一の反応波を撮影した。

記録したERG波形について、ピーク潜時及び振幅を計測した。振幅の求め方は、下河内⁸⁾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波のピークまでのピーク間振幅とした。

実験成績

Type Aのコンタクトレンズ電極にて導出したERG波形には、約16~20msecのピーク潜時に陰性のa波が出現し、続いて約50~60msecのピーク潜時に陽性のb波が出現した。a波は低振幅であり、個体によっては不明瞭な場合もあったが、b波は200~300 μ Vの高振幅であり、ピークを経過した後は約120msecまで緩やかな下降線を形成し、やがて基線に復した (Fig.2-1)。また、個体によっては、ときおり筋電の混入によると思われるnoiseが認められる場合もあった。

Type Bのコンタクトレンズ電極を装着する際には、電極と角膜との間に小さな気泡が混入することがあり、角膜との良好な接触を得ることが困難な場合が多かった



1) Type A electrode 2) Type B electrode

Fig. 1 Contact lens electrodes for recording the ERG.
A : inner ring serving as an exploring electrode.
B : outer ring serving as a reference electrode.

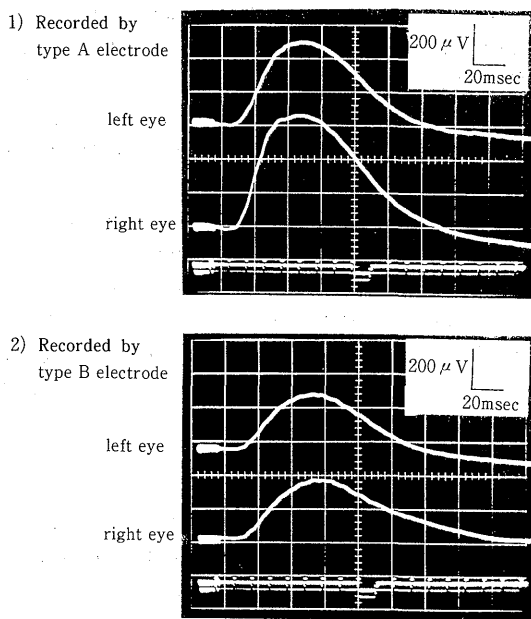


Fig. 2 ERG waveforms recorded by two kinds of contact lens electrodes.

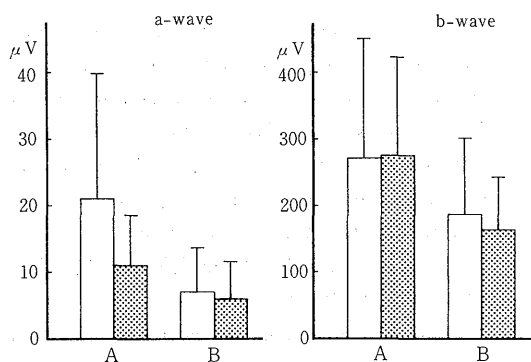


Fig. 4 Changes in amplitudes of ERG recorded by two kinds of contact lens electrodes.

A : recorded by type A electrode.

B : recorded by type B electrode.

□; left eye, ▨; right eye, Mean ± S.D. (n=5)

が、導出されたERG波形には、noiseの混入はほとんど認められなかった。しかし、a波及びb波ともに、type Aで記録したERGに比べて低振幅となる傾向がみられた (Fig. 2-2)。

Type A及びtype Bのコンタクトレンズ電極によるERG

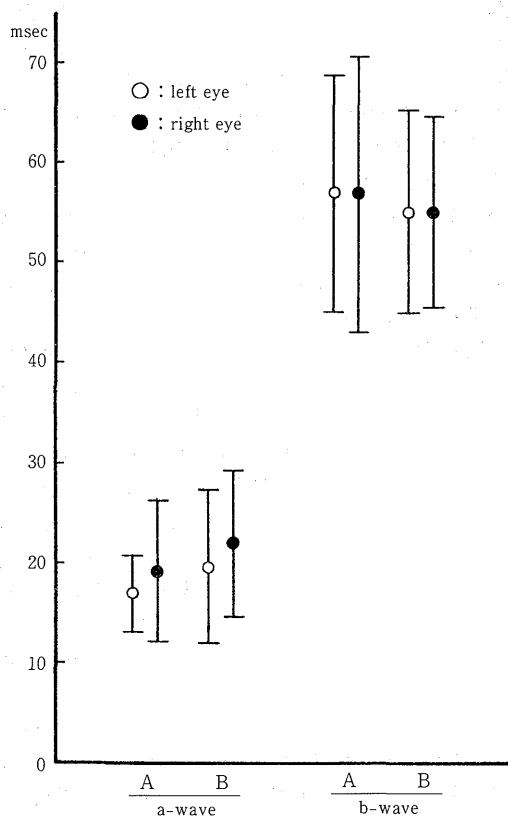


Fig. 3 Changes in peak latencies of ERG recorded by two kinds of contact lens electrodes.

A : recorded by type A electrode.

B : recorded by type B electrode.

Mean ± S.D. (n=5)

のピーク潜時をFig.3に示した。a波及びb波ともに、個体によるバラツキが大きい傾向にあったが、その平均値では、コンタクトレンズ電極の種類の違いによる差異は認められなかった。

a波及びb波の振幅はFig.4に示したように、type Aのコンタクトレンズ電極によるERGでは、a波の振幅が約10~20 μV、b波の振幅が平均約270 μVであった。一方、type Bのコンタクトレンズ電極によるERGは全般的に低振幅であり、b波の振幅はtype A電極によって導出した波形に比べて90~110 μV低値を示したが、個体によるバラツキが大きく、有意差は認められなかった。

考察及び結語

イヌのERGの導出には種々の電極が応用され、以前は、

電解質溶液に浸した綿あるいは銀球を角膜上に置いた記録⁴⁾、及び眼瞼に針電極を刺入して導出した記録²⁾などが報告されているが、近年では、角膜上に装着したコンタクトレンズ電極を用いて導出した報告が多くみられる^{1,3,7,9,10)}。渡辺と三宅¹⁶⁾は、ヒトの例において、コンタクトレンズ電極を使用した場合には高振幅のERGが記録されるのに対して、眼瞼に置いた皮膚電極によって記録されるERGは、コンタクトレンズ電極によるERGに比べて約1/7~1/6の低振幅であり、通常後者では、加算処理が必要であると述べている。

本実験では、基準電極の組み込まれていないコンタクトレンズ電極 (type A) 及び基準電極の組み込まれたコンタクトレンズ電極 (type B) を使用し、両電極により導出したERGを比較検討した。両電極によるERGは、ほぼ同様の潜時でそれぞれ a 波及び b 波が出現したが、その振幅はtype Bのコンタクトレンズ電極を用いた場合には、明らかに低値を示した。コンタクトレンズ電極を使用する場合には、電極と角膜との良好な接触を維持していなければ安定したERGを記録することができなかった。特にtype Bでは、角膜並びに結膜の両者ともに良好な接触が必要であった。

SATOら⁷⁾は、本実験で使用したtype Bとほぼ同様のコンタクトレンズ電極を使用し、無麻酔のイヌで比較的高電位の安定したERGを記録した。このことは、SATOらの使用したコンタクトレンズ電極が、電極と角膜との間に電解質溶液を満たし、かつ、電極を吸引するためのカニューレが備えられており、さらに良好な接触状態を保つことが可能となっていることによると考えられる。したがって、本実験でtype Bのコンタクトレンズ電極を使用した際に低振幅のERGが記録されたことは、電極と角膜あるいは結膜との接触が不十分であったものと推察されるので、さらに検討したいと考えている。

先人の報告^{1,3,7,9,10)}では、コンタクトレンズ電極を使用して記録したイヌのERGの a 波の振幅は約40~140 μ V、b 波の振幅は約200~300 μ Vであった。これに対して、本実験で記録されたERGの a 波は20 μ V前後の低振幅であり、b 波の振幅は約270 μ Vであった。NOELL (ウサギ)⁶⁾、米村 (ヒト)¹⁷⁾及びYONEMURAとTSUCHIDA (ウサギ)¹⁸⁾によれば、刺激光の強度を増すことにより、b 波はある程度まで増加し、やがて増加は止まるが、a 波はある範囲までなお増大し続けると述べている。したがって、本実験に用いた光刺激は、先人の刺激法に比べて刺激強度が弱いので、低振幅の a 波が記録されたものと推察される。

また、イヌの網膜は、杆体と錐体の混合網膜であり、そのうち杆体が95%を占めている⁵⁾。このような杆体優勢の網膜では、一般に低振幅の a 波と高振幅の b 波が記録されるといわれており¹⁵⁾、本実験において記録されたERG波形は、イヌの網膜の組織学的な特徴を反映するものと考えられる。

以上に述べたように、イヌの角膜上にコンタクトレンズ電極 (type A) を角膜と良好な接触を保って装着することによって、比較的安定したERGを記録することができた。しかし、基準電極の組み込まれたコンタクトレンズ電極 (type B) を使用する際には、電極と角膜及び結膜の両者との良好な接触を維持するための工夫が特に必要であると思われた。

参 考 文 献

- 1) Aguirre, G. D. and Rubin, L. F.: Progressive retinal atrophy in the miniature poodle: an electrophysiologic study. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, **160**, 191-201 (1972)
- 2) Bichsel, P., Oliver, J. E. Jr., Coulter, D. B. and Brown, J.: Recording of visual evoked potentials in dogs with scalp electrodes. *J. Vet. Intern. Med.*, **2**, 145-149 (1988)
- 3) Gum, G. G., Gelatt, K. N. and Samuelson, D. A.: Maturation of the retina of the canine neonate as determined by electroretinography and histology. *Am. J. Vet. Res.*, **45**, 1166-1171 (1984)
- 4) Jacobson, J. H. and Gestring, G. F.: Centrifugal influence upon the electroretinogram. *A. M. A. Archives Ophthalmol.*, **60**, 295-302 (1958)
- 5) Miller, M. E.: 犬の解剖学. 和栗秀一, 醍醐正之訳, 学窓社, 東京 (1970) pp.527-533
- 6) Noell, W. K.: Differentiation, metabolic organization, and viability of the visual cell. *A. M. A. Archives Ophthalmol.*, **60**, 702-733 (1958)
- 7) Sato, S., Sugimoto, S. and Chiba, S.: A procedure for recording electroretinogram and visual evoked potential in conscious dogs. *J. Pharm. Meth.*, **8**, 173-181 (1982)
- 8) 下河内 稔: 誘発電位の臨床検査指針 [3]. (米国脳波学会, 1984). *臨床脳波*, **30**, 627-633 (1988)
- 9) Sims, M. H.: Partial masking of the canine electroretinogram by oscillatory potentials. *J. Vet. Intern. Med.*, **4**, 40-42 (1990)
- 10) Sims, M. H. and Brooks, D. E.: Changes in oscillatory

- potentials in the canine electroretinogram during dark adaptation. *Am. J. Vet. Res.*, **51**, 1580-1586 (1990)
- 11) 鈴木 實, 七條喜一郎, 竹内 崇, 端村 崇, 槌田 卓, 光山智行, 中尾建子, 斎藤俊之: モルモットの閃光刺激による視覚誘発電位に関する基礎的研究. 鳥大農研報, **43**, 209-215 (1990)
- 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) 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)
- 14) 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)
- 15) 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
- 16) 渡辺郁緒, 三宅養三: ERG・EOGの臨床. 医学書院, 東京 (1984) pp.2-28
- 17) 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
- 18) 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)