

皮膚電極測定による小児網膜電位図の発達的变化

¹⁾ 鳥取大学医学部保健学科病態検査学講座 (主任 広岡保明教授)

²⁾ 鳥取大学医学部医学科脳神経医科学講座脳神経小児科分野

高森稔弘¹⁾, 橋本裕希¹⁾, 細田優太¹⁾, 宮本直樹¹⁾, 村田あや¹⁾
佐藤研吾¹⁾, 福田千佐子¹⁾, 広岡保明¹⁾, 前垣義弘²⁾

Development change of electroretinography with skin electrodes in children

Toshihiro TAKAMORI¹⁾, Yuki HASHIMOTO¹⁾, Yuta HOSODA¹⁾
Naoki MIYAMOTO¹⁾, Aya MURATA¹⁾, Kengo SATO¹⁾
Chisako FUKUDA¹⁾, Yasuaki HIROOKA¹⁾, Yoshihiro MAEGAKI²⁾

¹⁾ *Department of Pathobiological Science and Technology, School of Health Science, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago 683-8503, Japan*

²⁾ *Division of Child Neurology, Department of Brain and Neurosciences, Faculty of Medicine, Tottori University, Yonago 683-8504, Japan*

ABSTRACT

Electroretinography (ERG) is test for recording the electrical potential of the retina by photo stimulation. We studied development change of flash ERG performed with skin electrodes in children. The subjects were 30 pediatric volunteers and 20 healthy adult volunteers with no history of eye disease. ERG responses were obtained in both eyes with the skin electrodes positioned at the ear lobe and the inner canthus. In the infants, no ERG signal was detected in the first month after birth, however a-wave was recorded in the second month, and b-wave and oscillatory potentials (OPs) were recorded in the fourth month after birth. With development, a-wave latency became shortened, b-wave amplitude increased, and OPs became positive. Flash ERG using skin electrodes can help to determine developmental changes in children.

(Accepted on February 14, 2014)

Key words : electroretinography, skin electrodes, development change, pediatric

はじめに

網膜電位図 (electroretinogram : 以下, ERG と略記) は光刺激による網膜の活動電位を記録する検査であり, 成人では網膜色素変性症¹⁾, 糖尿病網膜症²⁾等の網膜疾患の診断に利用されている。

また, 自覚的な検査が困難な小児患者では, 遺伝性網膜疾患の診断に有用である³⁾。通常, 測定にはコンタクトレンズ型電極が使用されるが, 点眼麻酔が必要であること, 角膜に直接電極を装着するため, 角膜を傷つける可能性があることなど, 小児患者ではコンタクトレンズ型電極による測定

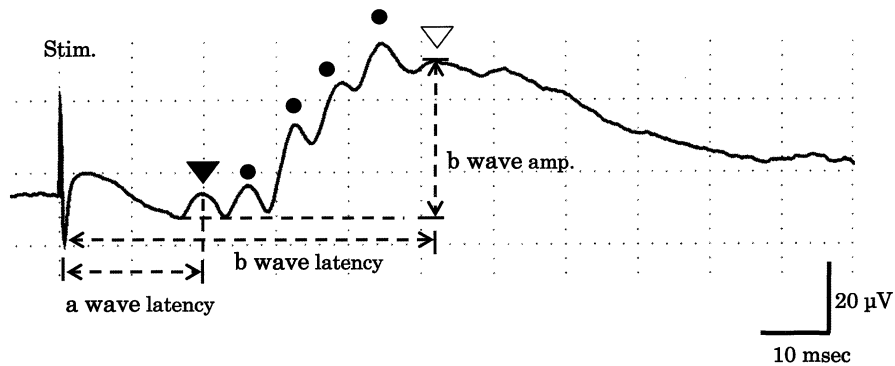


図1：健常者ERG（安静覚醒閉眼）22歳男性

刺激をStim., a波を▼, OPsを●, b波を▽で示す。また, a波潜時をa wave latency, b波潜時をb wave latency, b波振幅をb wave amp.で示す。

が困難である。

われわれはERG測定を小児において行うため、閉眼状態の健常成人において基礎的検討として皮膚電極を用いたERG測定の至適条件を検討した。その結果、電極位置は耳朶-内眼角、光刺激強度20 J以上、刺激装置距離20 cm～40 cm、暗順応時間5分以上という条件を最適条件として示した⁴⁾。本研究では基礎的検討で示された最適条件を小児に適応し、皮膚電極を用いた全視野フラッシュ ERGの発達の変化を検討したので報告する。

対象および方法

対象

2011年～2013年に鳥取大学医学部附属病院脳神経小児科に来院し、電気生理検査を施行した患児22名および健常小児8名の計30名（1歳未満、1歳～2歳未満、2歳～5歳未満、5歳～10歳未満、10歳～13歳未満、13歳～18歳の各5名）、健常学生20名（20歳～26歳：平均年齢22歳）を対象とした。健常学生の結果は前研究⁴⁾で測定したものを使用した。患児は、正期産児で、眼症状がなく、先天性代謝異常症、蘇生後脳症を含まない児を対象とした。本研究は鳥取大学医学部倫理審査委員会承認されており、全対象者はボランティアで参加し、研究に先立ち、趣旨と内容を口頭および書面で説明し同意を得た。

ERG測定

ERG測定機器は日本光電ニューロパックX1を使用し、Hi-cut filter 1 kHz, Lo-cut filter 0.5 Hz

に設定した。電極はAg-AgCl皿電極を使用し、関電極を内眼角、不関電極を耳朶に置き、両眼のERG測定を行った。誘導は陽性の電位変化を上向きに記録するPositive Upper法を利用した。刺激は20 J以上の光刺激を用い、刺激装置と被検者の眼までの距離を20 cm～40 cmに固定し、加算回数10～15回で全視野フラッシュ ERGの測定を行った。被検者はベット上仰臥位にて、暗順応を5分以上とし、安静覚醒状態で測定した。覚醒状態にて測定困難な小児はトリクロロールの経口投与により睡眠状態で測定を行った。

波形の計測方法

得られた波形を図1に示す。波形に示すごとくa波潜時、b波潜時、b波振幅、律動波（oscillatory potentials：以下、OPsと略記）数について計測した。陽性の電位変化を上向きに記録するPositive Upper法を使用したため、最初に上向きに記録された陽性波をa波（図1の▼）とし、刺激からその陽性波の頂点までをa波潜時とした。次に続く大きな上向きの陽性波形をb波、その上昇部位に記録されるさざ波様の波形をOPs（図1の●）とした。b波潜時は刺激から最後のOPsの後に記録され、OPsよりも緩やかな頂点を持つ陽性波の頂点（図1の▽）までとした。b波の振幅は最も陰性側に振れたa波成分からb波の頂点とした。

統計解析

PASW Statistics18を用い、一要因分散分析、および多重比較検定を行い、有意水準5%を統計学的に有意とした。

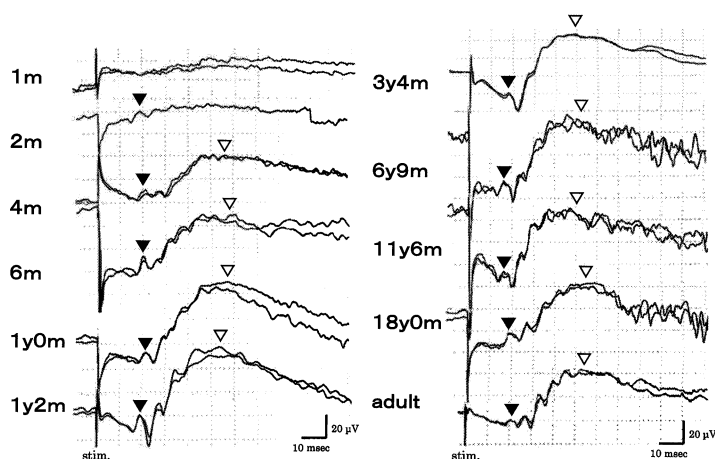


図2：ERG波形の発達的变化

a波潜時を▼, b波潜時を▽で示す。a波は生後2ヵ月以降, b波は生後4ヵ月以降で認められた。年齢をy (年: year), m (月: month) で示す。

表1：年齢層別計測結果

	a wave latency(msec)	b wave latency(msec)	b wave amplitude (μ V)	O4出現率(%)	n数
1y未満	20.2 \pm 1.4*	57.3 \pm 4.3	34.3 \pm 18.3(15.4)*	40	5
1y ~ 2y未満	20.1 \pm 1.2*	56.1 \pm 5.7	58.3 \pm 20.3(32.5)	80	5
2y ~ 5y未満	18.3 \pm 1.9	53.3 \pm 4.5	51.7 \pm 23.9(19.8)	40	5
5y ~ 10y未満	17.2 \pm 1.4	51.0 \pm 7.9	62.1 \pm 16.6(30.2)	60	5
10y ~ 13y未満	17.2 \pm 1.4	50.8 \pm 4.6	59.8 \pm 16.7(35.9)	80	5
13y ~ 18y	17.0 \pm 2.4	55.4 \pm 6.0	53.2 \pm 20.0(34.9)	100	5
adult	18.3 \pm 1.9	52.7 \pm 6.4	54.0 \pm 21.5(19.7)	80	20

平均 \pm SDで示す。b波振幅は最低値を()、O4出現率はOPsが4個記録された割合を示す。年齢をy(年: year)で示す。

*: $p < 0.05$ (adultと比較)

結果

実際に記録されたERG波形の発達による変化を図2に示す。生後1ヵ月では有意な波形が認められず、生後2ヵ月以降にa波、生後4ヵ月以降ではb波が認められ、発達に伴いb波振幅の増大が認められた。

次に年齢層別の計測結果を表1に示す。a波潜時は2歳未満では成人値と比べて統計学的有意差 ($p < 0.05$) が認められ、延長していたが、b波潜時は年齢層による差は認められなかった。b波振幅は、1歳未満では34.3 \pm 18.3 μ Vと成人値と比較して低振幅で、統計学的有意差 ($p < 0.05$) が認められたが、1歳以降では、成人値と比べて有意

差が認められなかった。

OPs数の結果を図3に示す。OPsは1歳未満では40%で記録されなかったが、1歳以降では少なくとも2個以上のOPsが全例で認められた。1歳未満でのOPsが認められなかったのは生後2ヵ月未満であった。2歳以降、成長とともにOPsが4つ記録される割合が多くなり、10歳以降では80%以上で4個のOPsが認められた。

考察

皮膚電極を用いたERGの発達的变化を検討した。生後2ヵ月頃よりa波が認められ、b波、OPsは4ヵ月以降明瞭に記録された。2歳以降のOPsは、成長に伴いOPsが4つ記録される割合が増加した。

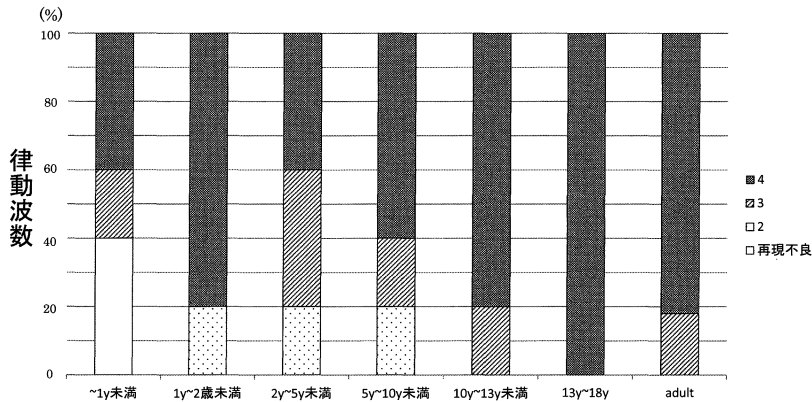


図3：発達によるOPs数の変化

それぞれの年齢層でOPsが記録された数を示す。1歳未満（生後2ヵ月未満）ではOPsが確認されなかった。2歳以降では成長によりOP4まで記録される割合が増加した。年齢をy（年：year）、m（月：month）で示す。

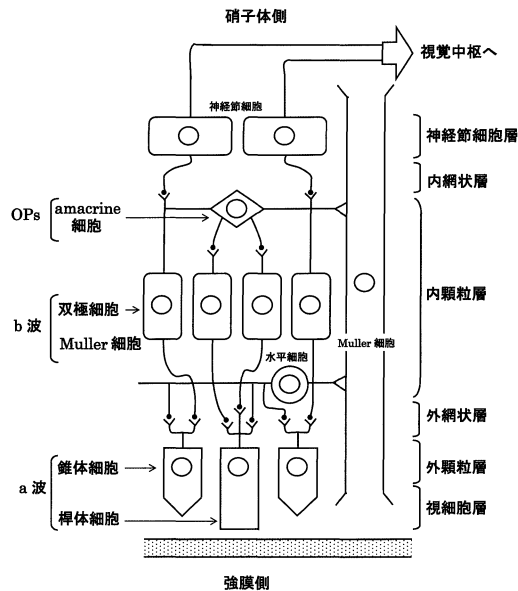


図4：網膜構造の模式図

網膜組織の模式図およびERG各要素波の起源を示す。文献5の第1図改変。

網膜組織の模式図およびERG各要素波の起源を図4に示す。網膜は種々の細胞から構成され、視細胞層に視細胞の桿体細胞と錐体細胞の外節、外顆粒層に桿体細胞と錐体細胞の細胞体、外網状層に視細胞、双極細胞、水平細胞のシナプス、内顆粒層に水平細胞、双極細胞、アマクリン細胞、Muller細胞の細胞体、内網状層に双極細胞、アマ

クリン細胞、神経節細胞のシナプスが存在する⁵⁶⁾。

ERGの各要素波の起源については、a波は視細胞、b波は双極細胞および網膜特有のグリア細胞であるMuller細胞⁷⁾、OPsはアマクリン細胞と報告されている^{5,8,9)}。OPsの起源といわれているアマクリン細胞は、興奮性、抑制性どちらにも働くことや、桿体経路から錐体経路への情報の乗り換

えに関与することが知られている¹⁰⁾が、OPsの発生の詳細は不明である。また、アマクリン細胞は視細胞、特に桿体細胞の電気信号を視覚中枢に伝搬しているため、OPs発生には桿体細胞もしくは錐体細胞も関与し、O1（以下、OPsは記録された順にO1、O2、O3、O4と略記）からO4それぞれ異なる視細胞と深く関わるとの報告もある^{11,13)}。いずれにせよ、OPsは、内網状層から外網状層に存在するアマクリン細胞、水平細胞のシナプスが発生源といわれている¹⁴⁾。

a波、b波の発生時期に関してはニワトリ、ラットでの報告^{15,17)}がある。ニワトリでは胎生期からa波、b波が認められるものの、波形形成前後の網膜組織を光学顕微鏡下で観察比較した結果、大差はないとの報告がある¹⁵⁾。ラットでは電子顕微鏡下で内網状層のシナプス形成が認められる生後からERGが記録されたといわれている^{16,17)}。

OPsの発生時期に関して、ニワトリでは胎生期にO3まで発生し、O4は孵化後に記録されたと報告されている¹¹⁾。また、OPsの発生源であるアマクリン細胞の成熟に関するラットでの報告では、アマクリン細胞は、内網状層のシナプス形成が認められa波、b波が記録された後に、成熟ラットと同様の形態が出来上がり、神経伝導機序が完成するといわれている¹⁸⁾。

ヒトのERGの各要素波発生時期に関する報告は見当たらないが、今回、生後4ヵ月でERG各要素波が記録されたことから、内網状層のシナプス形成が生後4ヵ月頃に形成されることが推測された。また、a波発生、b波発生、OPsの明瞭化の順にERG波形が変化した理由は、まずa波は内網状層のシナプス形成とは関係無く、視細胞のNa⁺イオンチャネルの働きで生じるため、b波より早期に認められたものと考えられた。また、ラットのアマクリン細胞での報告が示すように、アマクリン細胞はa波、b波が発生した後に形成、発達するため、b波発生後にOPsがO4まで認められる割合が2歳以降では、発達に伴い増加したものと推測された。

a波潜時に関しては、2歳未満では延長していた。a波の由来とされている視細胞には、暗所で機能する桿体細胞、明所で色の識別を行う錐体細胞があり、桿体細胞、錐体細胞はそれぞれ生後36時間、生後2ヵ月に機能し始めると報告されている¹⁹⁾。このことはa波が生後2ヵ月で確認出来たこ

と一致した。しかし、2歳未満でa波潜時の延長が認められたのは、2ヵ月頃より視細胞は機能するものの、視細胞で行われるイオン交換の過程が未成熟であるためと考えられた。

一方、b波発生までの情報伝達に関しては以下のようにいわれている。光刺激により視細胞の電気信号に変換された情報は、リボンシナプスという特殊なシナプスを介して二次ニューロンである双極細胞、および水平細胞に伝達される。この時に発生する電位として、視細胞から放出されるグルタミンが二次ニューロンに伝達され、b波が測定される。今回、b波潜時は発達に伴う有意な変化を認めなかったが、Krisssら²⁰⁾は皮膚電極を用いた結果から生後3ヵ月から成長に伴い短縮したこと、又、Fultonら²¹⁾は導電糸電極を用い、生後12ヵ月で成人値に達すると報告している。

b波は2ヵ月までは不明瞭で、4ヵ月から1歳まで発達に伴い、振幅が増大した。ERGの発達による振幅の変化に関しては、Fultonら²¹⁾は導電糸電極を用いて測定した結果、1歳で成人値に達すると報告している。また、ニワトリでは胎生18日からERGが記録され、孵化後急激に振幅上昇が認められると報告している¹⁵⁾。このように生後間もない時期ではERGは不明瞭もしくは、低振幅であり、生後の発達に伴いb波振幅が成人値に近づく。われわれの結果、生後4ヵ月から1歳にかけて、振幅が増大した。一般的に振幅は発火するシナプスの数および、その同期性に依存すると考えられ、b波発生に関与する内網状層のシナプスの数および同期性が成長に伴い増大したものと考えられた。

結 語

皮膚電極を用いたERG測定において、発達に伴う波形変化を検討した。皮膚電極を用いた測定方法で新生児から成人までの発達に伴うa波潜時の短縮、b波振幅の上昇、OPsの明瞭化を捉えることができた。今後、小児領域における臨床応用が期待される。

文 献

- 1) 北野滋彦. 糖尿病網膜症の検査と評価. 総合臨床 2008; 57: 1942-1946.
- 2) Pearlman JT. Mathematical models of retinitis pigmentosa: a study of the rate

- of progress in the different genetic forms. *Trans Am Ophthalmol Soc* 1979; **77**: 643-656.
- 3) 近藤峰生. 弱視と間違えやすい網膜疾患. *眼科* 2002; **44**: 717-728.
 - 4) 高森稔弘, 小谷由香, 橋本裕希, 樋口あゆ, 細田優太, 佐藤研吾, 福田千佐子, 広岡保明. 皮膚電極を用いたフラッシュ網膜電位図測定の基礎的検討. *米子医学雑誌* 2013; **64**: 1-6.
 - 5) 富田恒男. ERG波の細胞起源. *日本眼光学会誌* 1983; **4**: 1-6.
 - 6) 黒岩義之, Celesia GG. 視覚誘発電位 その正常波形と臨床応用. 新潟, 西村書店. 1989.
 - 7) 西川真平. 網膜とミュラー細胞. *防衛医科大学校雑誌* 2006; **31**: 43-55.
 - 8) 篠田啓. 全視野ERG: 記録方法と正常波形. 近藤峰生編, 網膜機能検査A to Z, 東京, 中山書店, 2012. p.136-142.
 - 9) 白尾裕. ERG構成成分の細胞起源と解釈. *眼科* 1992; **34**: 625-635.
 - 10) 米原圭祐. 網膜の運動方向性選択性神経回路の機能と構造及び発達. *生化学* 2012; **84**: 271-275.
 - 11) Kadono H, Kitamura M. Oscillatory potential in the chicken ERG. *Jpn J Vet Sci* 1987; **49**: 801-809.
 - 12) Kuniyoshi K, Irifune M, Uno N, Nakao A, Shimomura Y. Oscillatory potentials with repeated-Flash electroretinography. *Jpn J Ophthalmol* 2010; **54**: 32-35.
 - 13) Kuze M, Uji Y. Changes in electroretinogram oscillatory potentials during dark adaption. *Jpn J Ophthalmol* 2005; **49**: 420-422.
 - 14) Wachtmeister L, Dowling JE. The oscillatory potentials of the mudpuppy retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 1978; **17**: 1176-1188.
 - 15) Ookawa T. The onset and development of chick electroretinogram: The A- and B-waves. *Poult Sci* 1971; **50**: 601-608.
 - 16) Weidman TA, Kuwabara T. Postnatal development of the rat retina. *Arch Ophthalmol* 1968; **79**: 470-484.
 - 17) Weidman TA, Kuwabara T. Development of the rat retina. *Invest Ophthalmol* 1969; **8**: 60-69.
 - 18) 照林宏文, 糸井素一, 井端泰彦. ラット網膜内のVIP (Vasoactive Intestinal polypeptide). *日本眼科紀要* 1983; **34**: 1377-1381.
 - 19) 太田英伸, 向田茂. 早産児の視覚発達と行動リズムの制御 赤ちゃんの光受容体の発達過程. *時間生物学* 2010; **16**: 2-8.
 - 20) Kriss A. Skin ERG: their effectiveness in paediatric visual assessment, confounding factor, and comparison with ERGs recorded using various type of corneal electrode. *Int J Psychophysiol* 1994; **16**: 137-146.
 - 21) Fulton AB, Hansen RM. Electroretinography: application to clinical studies of infant. *J Pediatr Ophthalmol Strabismus* 1985; **22**: 251-255.