

脊椎動物眼球から導出される電気信号に関する研究の進歩

高 橋 恭 一

(受付 2016 年 8 月 31 日)

1. は じ め に

Du Bois Reymond (1849) はテンチ (コイ科に属する魚類) の眼球を摘出し、角膜側と眼球の後極側 (眼球から視神経が出る強膜部分; Du Bois Reymond は視神経の切断面に片方の濾紙電極を接触させた。) に濾紙電極を接触させ、その出力を自作の検流計に導き、角膜側が後極側よりも電氣的に陽性であることを報じた (眼球の常在電流 [常在電位], あるいは網膜静止電流 [網膜静止電位] 電位と呼ばれている。) (第 1 図 A 参照)¹⁾。Holmgren (1865) は同様の実験をカエル摘出眼球で行い、網膜静止電位を観察すると同時に、この電位が光照射に伴って変化することを見出した。Dewar & Mckendrick (1873a, b) もカエル摘出眼球を用いて実験を行い、光照射後に角膜側の陽性が増大すること、光照射中にこの陽性は徐々に減弱し光照射前の状態に復帰するかあるいは光照射前よりも角膜側の陽性が減少すること、そして光照射終了後には再び角膜側の陽性が増大し、その後徐々に減弱することを観察・図示した (第 2 図 A)。爾来、眼球に生じる微弱かつ時間経過の速い電氣的变化をより正確に導出し記録するために、検流計を含む測定機器ならびに記録方法の改良が続けられた。

Gotch (1903, 1904) はカエル摘出眼球の光照射・終了に伴う電氣的变化を毛細管電位計²⁾によって測定し、写真撮影した。この研究では光照射・終了後に角膜側の陽性が増大すること、そして光照射中角膜側の陽性が維持されるが、時間とともに徐々に減少することが示された。その後、Einthoven & Jolly (1908) は弦電流計³⁾を用いてカエル摘出眼球に生じる網膜活動電位を正確に捉え、そしてこの電氣的变化の詳細を写真撮影することに成功した (現在知られている網膜電図 [a~d 波] を初めて紹介した。) (第 1 図 B と第 2 図 B 参照)。Einthoven & Jolly (1908) および Piper (1911) は網膜活動電位を 3 つの要素から成ると考え、これらのしくみを明らかにすべく実験を始めた。これらの研究は Granit (1933, 1934 [Granit & Riddell]), Noell (1951, 1952a, b, 1953a, b) や Tomita (1950, 1952, 1956; Tomita *et al.*, 1951a, b, 1960) を経て、現在へと受け継がれている (第 4 図参照)。

本論文では、カエル摘出眼球を用いて網膜活動電位を初めて図示した Dewar & Mckendrick (1873a, b), そしてカエル摘出網膜を用いて正確な網膜活動電位を写真撮影することに成功した Einthoven & Jolly (1908) の論文に焦点を合わせ、網膜活動電位の測定法・記録法の発

展とその後の臨床応用までの経緯を調査した。

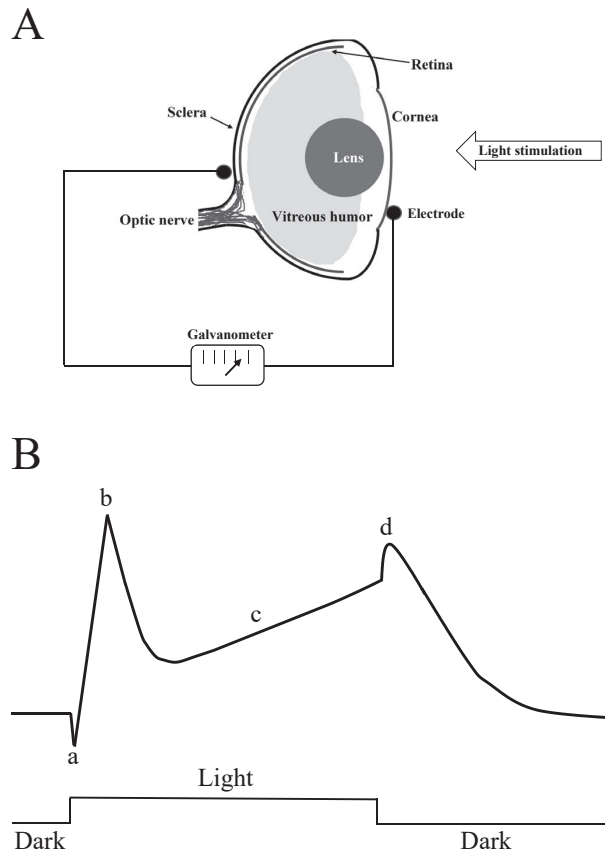
2. Dewar & Mckendrick の実験

Holmgren（研究場所：ベルリン大学〔ドイツ〕とウプサラ大学〔スウェーデン〕）によってスウェーデン語で書かれた研究論文に気付かないまま、Dewar & Mckendrick（研究場所：エジンバラ大学〔スコットランド〕）はカエルから眼球を摘出し、Du Bois Reymond（1849）と同様の装置（記録槽、濾紙電極、不分極電極や検流計など）・方法を用いて実験を行った。

まず、Du Bois Reymond（1849）の実験結果を確認すべく、眼球の角膜側（前極側）と後極側に濾紙電極を接触させ、網膜静止電位発生の有無を調べた（第1図A参照）。カエルのみならず魚類から哺乳類までの多くの動物種（キンギョ、各種のカエル、カメ、ハト、イヌ、ネコや各種のウサギ）で実験を行い、何れの動物においても角膜側が陽性そして後極側が陰性となる網膜静止電位が存在することを示した（実際には、眼球外を角膜側から後極側に向かってを流れる電流を観察した。）。

次に、カエル摘出眼球に光刺激を与え、電気的变化が生じるのか否かを調べた。光源として、㊦太陽光、㊩点火したマッチ（炎）、㊭ガスバーナーの炎、あるいは㊴ガスの炎の後方に硫酸アンモニウム銅溶液〔青色〕あるいは重クロム酸カリウム溶液〔橙色〕を入れた球体（約30 cm）のガラス容器を置き得られる色光を用いた。残念ながら、Du Bois Reymond が用いた検流計では、光照射に伴う電流変化を検出することができなかった。そこで、電流感度の高い Thomson 型検流計⁴⁾を Tait 教授⁵⁾に借り、再度実験を試みた。眼球の角膜側と後極側に接触させた濾紙電極の出力を Thomson 型検流計に導き、眼球に光を照射すると、検流計の針に大きな触れ、すなわち網膜活動電位が現れた（第2図A参照）。光照射後に角膜側の陽性が増大し、その後ゆっくりと元のレベルへと回復した（実際には、第2図Aにあるように網膜静止電位よりもさらに減少している。）。光照射を終了すると、再び角膜側の陽性が増大する変化が現れた。

光刺激に伴う電気的变化を記録するには、検流計の針の振れ（実際には、針〔磁針〕に取り付けた鏡で反射する光がスケールの上を移動する。）を写真撮影することが求められる。検流計の針の振れ、つまり反射光の動きを写真撮影するには撮影装置と高い技術が必要であり、これには多くの時間を要するため、本実験ではより簡便な方法を採用した。つまり、時間と検流計の針の振れ（スケール上を移動する光）を異なる観察者が読み取り、これらを合わせて電流変化を作図（記録）する方法である。実際には、第一観察者が2.5秒毎に時間を読む、第二観察者がそれぞれのタイミングで検流計のスケールを読む作業を行った（第2図A参照）。第二観察者は光照射時間の調節も行った。この記録方法は時間分解能の悪いという欠点



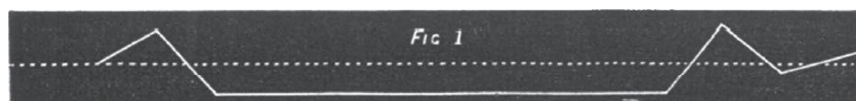
第 1 図：網膜活動電位の導出法とその波形（概略）

A：脊椎動物眼球の光透過部分を角膜（Cornea）、それ以外を強膜（Sclera）と呼ぶ。眼球内部には水晶体（Lens）、硝子体（Vitreous humor）、網膜（Retina）などが存在し、眼球の形状維持に加え光路を形成している。網膜で受容そして処理された光情報は視神経（Optic nerve）を経て脳へと伝播される。脊椎動物（カエルやネコなど）を麻酔し、摘出した眼球の角膜と眼球の後極側（視神経が眼球から出る部分〔強膜〕）に電極（Electrode）を接触させ、これを検流計（Galvanometer）に接続すると、網膜静止電位（眼球の常在電位〔常在電流〕）、そして光刺激（Light stimulation）に伴い網膜活動電位が現れる。B：眼球に光刺激（Light）を与えると、先ず角膜側が陰性となる a 波、続いて陽性となる b 波が現れ、その後 b 波は減弱するも再び陽性波（c 波）へと転じる。その後、c 波は次第に減弱する。また、長時間の光照射を行ったとき、照射終了後（Dark）陽性波（d 波）が発生する（角膜側の陽性を上向きに、陰性を下向きに表す。）。B の波形は、実際の網膜電図を参考に各波の特徴を強調して模式的に表現した。従って、各波の波形や時間経過は不正確である。

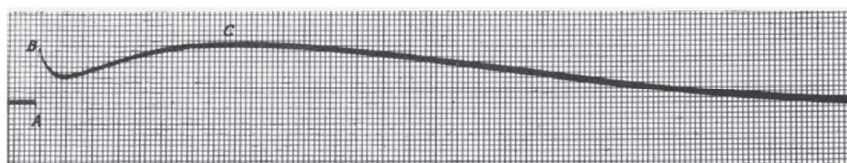
があったが、眼球から導出された電気信号を初めて論文に記載することに成功した。

上記以外に、Dewar & Mckendrick (1873a, b) は光刺激に伴う電流変化の大きさが刺激強度の対数に比例すること（Fechner の法則）、また無脊椎動物（カニ、エビやヤドカリなどの甲殻類）の眼では網膜静止電流の極性が脊椎動物の逆になっていることも明らかにした。

A



B



第2図：網膜活動電流（網膜活動電位）の実測波形

A：Dewar & McKendrick (1873b) の第1図を引用した。カエル摘出眼球の角膜側と後極側に濾紙電極を接触させ、その出力を Thomson 型検流計へと導いた。2.5秒ごとに検流計の針を読み、これを表記した。光照射・終了後に角膜側の陽性が増大するが、光照射中は角膜側の陽性は著しく減少した（光の照射時間や強度は不明である。）。光照射・終了後の陽性変動については、Holmgren (1865) も報告している。B：Einthoven & Jolly (1908) の第3図を引用した。カエル摘出眼球の角膜側と後極側に不分極電極を接触させ、その出力を弦検流計へと導き、その変化を写真撮影した。暗黒に置かれたカエル摘出眼球に0.1秒間の緑色光刺激を与えると、照射後極めて短い潜時で誘発される陰性波（a波）に続き、陽性波（b波とc波）が導出された。ただし、本図でa波は非常に小さくかつ変化が速いため、確認することが難しい。また、光の照射時間が短いため、d波は惹起されなかった（マス目のヒト目盛り [横軸は0.5秒、縦軸は $100\mu\text{V}$]（正確な波長と光強度は不明である。光強度はオリジナルの100分の一にして用いている。）。）。

3. Einthoven & Jolly の実験

Holmgren (1865) および Dewar & McKendrick (1873a, b) 以降、網膜活動電位に関する実験が継続して行われてきた。しかし、眼球の健全度、検流計の感度と反応速度（時間分解能）、光刺激に使用する光源（マッチの火、ガスの炎やろうソクの火など）、眼球への光刺激強度や照射時間、そして眼球から導出される電気的変化を客観的に表示する方法が不完全・不十分なため、網膜活動電位の実態を詳細に解明には至らなかった。

Einthoven & Jolly (1908) はこれらの諸問題を克服すべく、カエル摘出眼球を維持する方法、検流計とその記録法（写真撮影方法）そして光刺激法などに改良を加え実験を行った。カエルから摘出した眼球の角膜側と後極側に不分極電極を接触させ、これらを加湿した容器内に設置した。光源としてアーク燈を用い、光路にレンズとプリズムを配置し、光刺激は水浸レンズを介してカエル摘出眼球に直接与えられた。光路には絞りと回転する黒色スクリー

ンを置き、光量と照射時間を制御した。

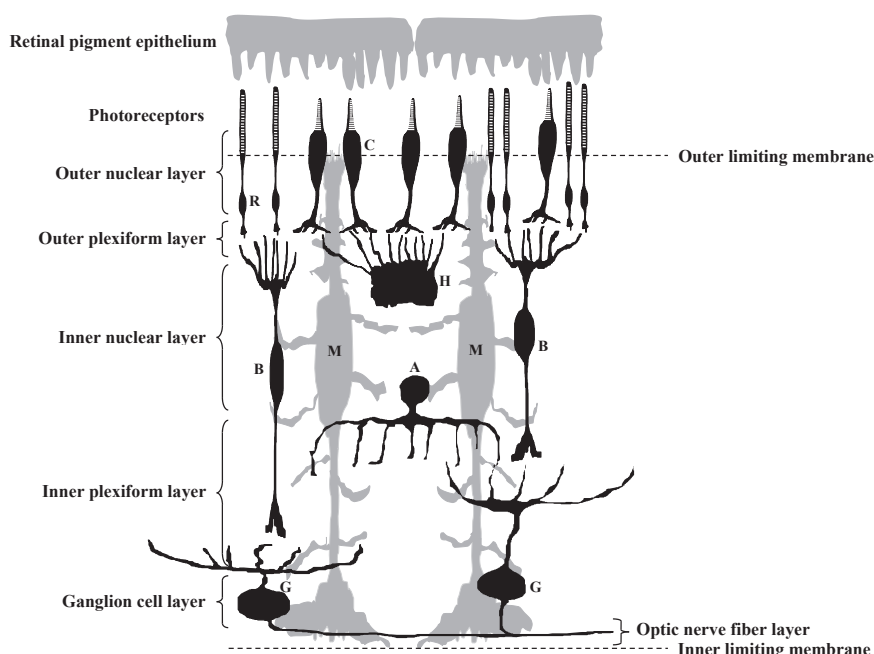
カエル摘出眼球に接触させた不分極電極（ガラス管の一端を導電性粘土で覆い、このガラス管内には亜鉛溶液を加え、他端にアマルガム化した亜鉛板を入れて電極とした。導電性粘土は柔らかいため、被検体に接触しやすいように成形して使用した。）の出力を高感度かつ時間分解能の優れた弦電流計に接続し、0.1秒の緑色光刺激を行った。この結果、光照射後極めて短い潜時で誘発される陰性波（a波）に続き、陽性波（b波とc波）が導出され、これを写真撮影することに成功した（第2図B参照）。Einthoven & Jolly (1908) によって報告された網膜活動電位の波形が眼球の忠実な電気的変化の記録であることは、その後弦電流計を利用した Granit (1933) や Granit & Riddell (1934) の研究、そして1920年代以降生理学分野に徐々に普及していった電子管技術⁶⁾の利用した研究によって確認された (Brindley, 1956a-c)。

4. 網膜静止電位の発生部位

摘出眼球の角膜側と後極側の間に眼球常在電位（網膜静止電位）が存在することは Du Bois Reymond (1849) によって初めて報じられ、この結果は Holmgren (1865, 1870) 以降の多くの研究者によって確認された。さらに、Holmgren (1880) および Kühne & Steiner (1880) が行った実験では、この電位の起源が網膜（網膜色素上皮〔非神経性部位〕と神経網膜〔神経性部位〕）にあることが示唆された（第3図参照）。爾来、なぜ網膜静止電位が発生するのかに関する実験が数多く行われ複数の仮説⁷⁾（例えば、Garten, 1907; Nagel, 1904; Waller, 1900）が提唱されたが、決着を見るに至っていない。

摘出眼球を用いた実験において、摘出直後に網膜静止電位は一旦増加するも、摘出後時間が経過すると減少に転ずることが報じられた (Kühne & Steiner, 1880; Waller, 1903)。一方、クラレーを注射して不動化したハトやニワトリの眼球（眼球を摘出しないで、生体に存在する状態で使用した。）から網膜静止電位を導出すると、長時間安定して記録が得られることが明らかとなった (Himstedt & Nagel, 1902)。そして、Himstedt & Nagel (1902) は生体に眼球を維持した状態で記録した網膜静止電位は明順応で増大するが、暗順応で減少することも見つけた。カエルでも眼球を摘出しない状態では、網膜静止電位が長時間安定して記録されること、そして明暗順応に伴いこの電位が変化することが確認された（例えば、Dewar & McKendrick, 1876; Brossa & Kohlrausch, 1913）。さらに、網膜静止電位は温度依存性や各種のイオン依存性、そして代謝への依存性があることも明らかとなった（例えば、Gotch, 1903; Beuchelt, 1921; Westerlung, 1907）。

後年、網膜静止電位に影響する薬剤（例えば、ヨウ素酸ナトリウム）が網膜色素上皮細胞



第3図：脊椎動物網膜の構成（模式図）

脊椎動物網膜は、非神経性の網膜色素上皮（細胞層）（Retinal pigment epithelium）と神経性の神経網膜（Neural retina）からなる。神経網膜には5種類の神経細胞（視細胞 [photoreceptor]、水平細胞 [Horizontal cell [H]]、双極細胞 [Bipolar cell [B]]、アマクリン細胞 [Amacrine cell [A]]、神経節細胞 [Ganglion cell [G]]）が存在する。視細胞のみが光感受性を有し、これ以外の神経細胞は視覚情報処理に当たる。視細胞は光に対する感受性の高い桿体（Rod [R]；薄明視に関与）と低い錐体（Cone [C]；昼光視に関与）に分けられる。視細胞外節部分を視細胞層（Photoreceptors）、視細胞の細胞体部分を外顆粒層（Outer nuclear layer）、双極細胞、水平細胞とアマクリン細胞の細胞体が存在する部分を内顆粒層（Inner nuclear layer）、網膜の出力細胞である神経節細胞の細胞体が存在する部分を神経節細胞層（Ganglion cell layer）、そして神経節細胞の軸索が走行する層状構造を視神経軸層（Optic nerve fiber layer）と呼ぶ。また、視細胞、双極細胞と水平細胞がシナプス連絡を形成する部分を外網状層（Outer plexiform layer）、そして双極細胞、アマクリン細胞と神経節細胞がシナプス連絡を形成する部分を内網状層（Inner plexiform layer）と呼ぶ。視細胞において光信号が電気信号に変換された後、基本的に縦方向に配列された細胞群（視細胞→双極細胞→神経節細胞）を経て脳にまで運ばれる。この縦方向の流れは横方向に配置されている細胞群（水平細胞とアマクリン細胞）による処理を受ける。水平細胞は外網状層で、そしてアマクリン細胞は内網状層で視覚情報処理（色覚、形態視、運動視の基礎過程）を行う。視覚情報は、視神経（神経節細胞の軸索）を経て脳に達する。神経網膜内には非神経性細胞である Müller 細胞（M）（グリア細胞の一種）が存在する。Müller 細胞は主に網膜内神経組織の物質代謝やイオン環境維持などの働き、そして網膜色素上皮（細胞層）は明暗順応、視細胞外節の維持そして網膜運動現象に関わっていることが知られている。このミュラー細胞の両端が内境界膜（Inner limiting membrane）と外境界膜（Outer limiting membrane）を形成している。

脊椎動物眼球に光を照射すると、先ず角膜側の陰性が一過性に増大する a 波、続いて陽性に転じ b 波が現れ、その後 b 波は減弱するも再び陽性波（c 波）が現れる。その後、c 波は次第に減弱して元の状態に復帰する。また、長時間の光照射を行ったとき、照射終了時新たに陽性波（d 波）が発生する（第1図B参照）。現在、網膜活動電位の a 波は視細胞（桿体と錐体）、b 波は双極細胞と Müller 細胞、c 波は網膜色素上皮細胞と視細胞、そして d 波は錐体（光照射終了時の電氣的応答）が主な発生源であると考えられている。

に障害を与えること (Noell, 1951, 1952a, b, 1953, 1954), そして網膜内に微小電極を挿入すると, 網膜色素上皮細胞 (層) を挟んで大きな電位が存在すること (Brindley, 1956a-c; Brown & Wiesel, 1958; Tomita *et al.*, 1959, 1960) などが明らかにされ, これらを踏まえて網膜色素上皮細胞 (層) が網膜静止電位の主な発生源であると推測された。さらに, Noell (1963) は放射性同位体 K^{42} を用いて脈絡膜側から硝子体側へのカリウムイオン (K^+) の移動と網膜静止電位を関連付け, この電位変化に関係するイオンとして K^+ を予想している。

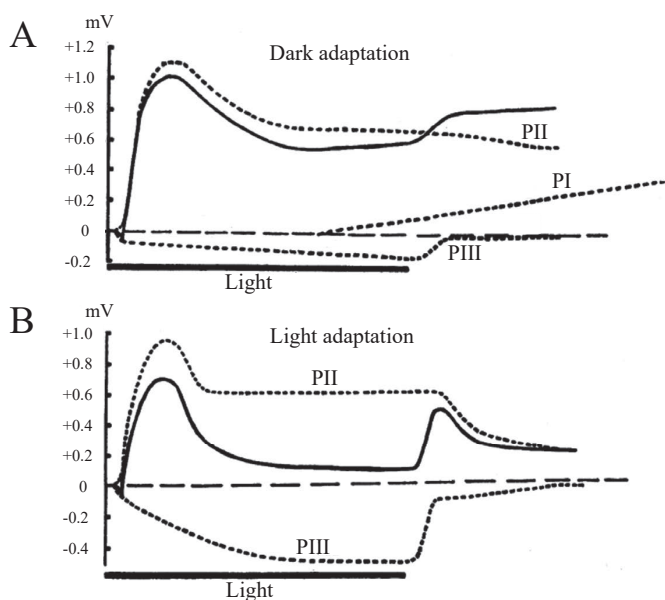
現在, 網膜色素上皮細胞 (層) は網膜静止電位のみならず網膜活動電位の c 波の発生にも関与していると考えられている。

5. 網膜活動電位の発生部位

脊椎動物眼球に光を照射すると, 先ず角膜側の陰性が一過性に増大する a 波, 続いて陽性に転じ b 波が現れ, その後 b 波は減弱するも再び陽性波 (c 波) が現れる。その後, 次第に減弱して元の状態に復帰する。また, 長時間の光照射を行ったとき, 照射終了時新たに陽性波 (d 波) が発生する (第 1 図 B 参照)。これが網膜活動電位であり, この記録を網膜電図 (Electroretinogram: ERG) と呼ぶ。b 波は光照射時そして d 波は光照射終了時に発生するため, b 波を ON 応答そして d 波を OFF 応答と呼ぶことがある。

Einthoven & Jolly (1908) や Piper (1911) は網膜活動電位の成分分析を行い, この波形が 3 つの成分からなることを推測した。Granit (1933, 1947, 1955) はネコ (*Felis catus*) 網膜に各種の薬剤を作用させる実験から, 網膜活動電位が PI (Process I の略), PII そして PIII の 3 つの成分からなることを明らかにした (カエル [*Rana esculenta* あるいは *Rana temporaria*] でも, 網膜活動電位が 3 つの成分からなることを報告した [Granit & Riddell, 1934])。 (第 4 図参照)。さらに, Granit (1933, 1947, 1955) と Granit & Riddell (1934) はこれら 3 つの成分と網膜活動電位の関係を解析し, PI は c 波, PII は b 波, そして PIII は a 波に関連していることを報告した。

PIII は PI や PII と異なり陰性電位であること, そして酸素不足などに対して抵抗性があること, また PIII が a 波の最初の応答を形成する成分であることから, 発生源として視細胞 (層) が有力視された (Granit, 1933, 1947, 1955; Granit & Riddell, 1934)。一方, Tomita (1950) は, ウシガエル (*Rana catesbeiana*) 網膜にガラス管電極 (先端孔径 7~15 μm) を適用して網膜活動電位の解析を始め, PI は視細胞外節と網膜色素上皮 (層) の境界部分で発生すること, PII と PIII は主に双極細胞層で発生すること, そして PIII の発生に視細胞の関与は極めて小さいことなどを報告した (Tomita, 1950, 1951a, b, 1953)。Tomita の報告の中で, PI の発生源については多くの研究者の賛同が得られたものの, PII と PIII の発生源が双



第4図：網膜活動電位を構成する3つの成分

Granit & Riddell (1934) の第4図を引用した（ただし、網膜活動電位の縦軸の数値と単位および PI, PII と PIII の数値は不鮮明なため、書き加えた。また、Dark adaptation, Light Adaption そして Light も書き加えた。）。数時間暗室に維持したカエルの眼球を弱い赤色光下で摘出し、これに不分極電極を接触させ、この出力を弦電流計へと導き、写真撮影した。Granit (1933) や Granit & Riddell (1934) は、酸素不足やエーテルやその他の薬剤投与の実験に基づき網膜活動電図が PI, PII および PIII の3つの成分に分けられることを明らかにした。A は暗順応 (Dark adaptation) 後、B は明順応 (Light adaptation) 後の典型的な網膜活動電位の波形（各記録の太線は2秒間の光照射 [Light] 時間を示している。）に PI ~ PIII の3成分を重ねている。これらの研究により、PI は c 波、PII は b 波、そして PIII は a 波の発生に関与していることが明らかとなった。これ以降、PI, PII と PIII が網膜のどの部分から発生するのかを解析する研究が始まり、後年網膜電図の a ~ d 波の起源が概ね解明された。

極細胞であるという主張には異論が唱えられ紛糾した。特に、Noell (1953) や Ottoson & Svaetichin (1953) は PIII の主な発生源が視細胞層であることを主張し、Tomita と厳しく対立した。Brown & Wiesel (1959, 1961) はネコ網膜に微小金属電極を適用して網膜活動電位の成分分析を行い、PII が双極細胞層にその起源がある点は Tomita の主張を支持するも、PIII については視細胞層にその起源があることを報じた。後年、PIII は distal PIII と proximal PIII の2つに分類され、distal PIII は視細胞層にその起源があることが判明した。しかし、proximal PIII が双極細胞の可能性が考えられているが、未だ明らかになっていない (Murakami & Kaneko, 1966)。

1960年代に入ると、網膜活動電位の波形が網膜の明・暗順応状態のみならず温血・冷血動

物の違いによっても異なることが明らかとなった（例えば、Steinberg *et al.*, 1991）。1960年代に入ると、ガラス管微小電極を利用した網膜内単一細胞の膜電位記録が盛んとなり、網膜静止電位や網膜活動電位の研究は縮小していった（例えば、Svaetichin, 1953, 1956）。従って、網膜活動電位の発生部位を調べる研究は未だ完結していない。

現在、網膜活動電位の a 波は視細胞（桿体と錐体）、b 波は双極細胞と Müller 細胞、c 波は網膜色素上皮細胞と視細胞、そして d 波は錐体（光照射終了時の電氣的応答）が主な発生源であると考えられている（例えば、Balicka *et al.*, 2016）。

6. ヒトの網膜静止電位と網膜活動電位の利用 ——網膜電図と眼球電図——

ヒトの網膜活動電位を初めて記録したのは、Dewar (1877) である。ヒトを水平（仰向け）に寝かせて頭部を固定し、眼の周囲に粘土あるいはパラフィンの壁（土手）を構築し、この内側に電解質溶液を加え、一方の不分極電極の端を浸して Thomson 型検流計に接続した（角膜に接続する電極）。また、グッタペルカ（マレーシア原産のアカテツ科の樹木〔グッタペルカノキ〕の樹液から採取し乾燥したゴム状物質）で大きな槽（器）を作製し、この中に電解質溶液を加え、他方の電極を挿入して検流計に接続した。網膜静止電位や網膜活動電位を導出する際、グッタペルカ槽内に満たした電解質溶液に手を入れ、眼の周囲に構築した壁の内側を満たした電解質溶液中で眼を見開きそして光刺激が与えられた。この方法によってヒト眼球からも、他の脊椎動物と同様の網膜静止電位ならびに網膜活動電位が導出されたと推測される⁸⁾。19世紀後半は動物実験（摘出眼球あるいは麻酔により不動化した動物の眼球を使用する実験）が先行し、ヒトでの網膜静止電位や網膜活動電位の研究はあまり行われなかった。20世紀に入ると、ヒトで網膜活動電位を導出する機運が徐々に高まっていった（例えば、Kahn & Löwenstein, 1924; Cooper *et al.*, 1933; Bernhard, 1940）。角膜に不分極電極を接触させるため、電解質溶液を加えたゴーグルの開発も行われた（Hartline, 1925）。やがて、コンタクトレンズ型の電極が開発され、ヒトでも網膜活動電位の記録が比較的に簡単に行えるようになった（例えば、Karpe, 1946, 1948; Riggs, 1941）。そして、臨床（例えば、網膜色素変性や錐体ジストロフィ、ビタミン A 欠乏網膜症など）への応用が始まった。コンタクトレンズ型電極（関電極）を角膜の上に、不関電極を前額部、そして接地電極を耳朶に装着して測定が行われる。網膜活動電位の中で主に a 波、b 波そして律動様小波が網膜色素変性症や網膜剥離などの病変検出に利用されている。律動様小波は強光照射に伴い b 波に重なって現れる 4 つの小さな電位変動であり、アマクリン細胞が関与していると考えられている。

網膜静止電位は眼球の動きに応じて変動することが明らかとなった（例えば、Schott, 1922; Miles, 1939a, b; Leksell, 1939; Kris, 1958, 1959）。この電位記録は眼球電図

(Electrooculogram: EOG) と呼ばれ、眼球運動の測定に利用されている（例えば, Marg, 1951; Arden & Barrada, 1962; Arden & Kelsey, 1962a, b; Arden *et al.*, 1962）。現在、眼球運動に関する神経系の異常検出に威力を発揮している。角膜頂点を中心にして左右・上下対象な部位、つまり眼球付近の内眼角部と外眼角部そして眉毛部中央と下眼窩縁中央に電極を装着し、また耳朶に接地電極を装着して測定が行われる。眼球電図の起源が主に網膜色素上皮細胞であるため、近年網膜色素上皮（層）の異常検出に EOG の利用されている。

7. 終わりに

Holmgren (1865) はカエルの摘出眼球を用いた実験を行い、光照射・終了時に角膜側の陽性が増大することを発見し、スウェーデンの学術誌 (*Upsala Läkareförenings förhandlingar* [ウプサラ医師協会雑誌]) にスウェーデン語で報告した。この研究論文に気付かなかった Dewar & McKendrick (1873a, b) は、同様の実験を行い概ね同じ結果を得ている。光刺激にはロウソクやガスの炎が使用される時代であり、光強度や照射時間を制御することは難しく、実験では比較的長時間の光照射が行われたに違いない（1秒あるいはそれ以上の光照射時間）。また、検流計（Holmgren は Wiedermann 型検流計そして Dewar & McKendrick は Thomson 型検流計を使用した。）は時間分解能が低いため、速い電気的変化を検出することはできなかったと推測される。勿論、カエル摘出眼球の作製法と保存法、また眼球摘出から実験実施までの時間などが不明であることを考慮すると、この時代の実験で得られた結果の信憑性も揺らぐ。とはいえ、Holmgren (1865) と Dewar & McKendrick (1873a, b) によって報じられた光照射・終了時に生じる電気的変化は b 波と d 波に、そして光照射時の変化が c 波に対応している可能性が高い（光照射直後に惹起される a 波は観察されていない。）。視覚生理学分野では Thomson 型検流計の後継機として、Lippmann (1873) が開発した毛細管電位計が使われ、網膜活動電位の導出・写真撮影に成功している (Gotch, 1903, 1904)。この論文でも、光照射・終了後に角膜側の陽性が増大すること、そして光照射中も角膜側の陽性が維持されるが、徐々に減少して行く様子が示されている。これらは、b 波、c 波そして d 波に対応していると考えられる。

Einthoven (1902) が開発した弦電流計は電流感度のみならず時間分解能でも従来型より優れており、このため心電図を記録するために威力を発揮した (Einthoven, 1908)。また、眼球への適用によって光照射後に角膜側の陽性が増大 (b 波) する以前に、一過性に角膜側が陰性 (a 波) に振れることを見出した (Einthoven & Jolly, 1908)。1920年代に入り、陰極線オシロスコープが生理学分野に導入された後も、この弦検流計は廃れずに使用された。実際、Granit (1933) や Granit & Riddell (1934) はネコあるいはカエルの網膜活動電位の成分分析

に Edelman 型弦電流計を用いている。しかし、1930年代後半に単一神経細胞の膜電位変化を細胞内誘導する実験が行われる頃になると、膜電位変化の振幅、時間経過や波形を調べるために主に陰極線オシロスコープが使用されるようになった。

引用文献

- Arden, G. B. and Barrada, A. (1962), An analysis of the electropoculograms of a series of normal subjects, *Br. J. Ophthalmol.*, **46**: 468–482.
- Arden, G. B. and Kelsey, J. H. (1962a), Changes produced by light in the standing potential of the human eye, *J. Physiol.*, **161**: 189–204.
- Arden, G. B. and Kelsey, J. H. (1962b), Some observations on the relationship between the standing potential of the human eye and the bleaching and regeneration of visual purple, *J. Physiol.*, **161**: 205–226.
- Arden, G. B., Barrada, A. and Kelsey, J. H. (1962), A new clinical test of retinal function based upon the standing potential of the eye, *Br. J. Ophthalmol.*, **46**: 449–467.
- Balicka, A., Trbolova, A. and Vrbovska, T. (2016), Electoretinography (A Review), *Folia Vet.*, **60**: 53–58.
- Bernhard, C. G. (1940), Contributions to the neurophysiology of the optical pathway, *Acta Physiol. Scand.*, **1** (Suppl. 1): 52–94.
- Beuchelt, H. (1921), Die Abhängigkeit der photoelektrischen Reaktion des Froschauges von den ableitendem medien, *Z. Biol.*, **73**: 205–230.
- Brindley, G. S. (1956a), The passive electrical properties of the frog's retina, choroid and sclera for radial fields and currents, *J. Physiol.*, **134**: 339–352.
- Brindley, G. S. (1956b), The effect on the frog's electoretinogram of varying the amount of retina illuminated, *J. Physiol.*, **134**: 353–359.
- Brindley, G. S. (1956c), Responses to illumination recorded by microelectrodes from the frog's retina, *J. Physiol.*, **134**: 360–384.
- Brossa, A. and Kaulrausch, A. (1913), Die Aktionsströme der Netzhaut bei Reizung mit homogenen Lichtern., *Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt.*, 449–492.
- Brown, K. T. and Wiesel, T. N. (1958), Intraretinal recording in the unopened cat eye, *Am. J. Ophthalmol.* **46**: 91–98.
- Brown, K. T. and Wiesel, T. (1959), Intraretinal recording with micropipette electrodes in the intact cat eye, *J. Physiol.*, **149**: 537–562.
- Brown, K. T. and Wiesel, T. (1961), Localization of origins of electoretinogram components by intraretinal recording in the intact cat eye, *J. Physiol.*, **158**: 257–280.
- Cooper, S., Creed, R. S. and Granit, R. (1933), A note on the retinal action potential of the human eye, *J. physiol.*, **79**: 185–190.
- Dewar, J. (1877), The physiologic action of light. *Nature*, **15**: 433–435.
- Dewar, J. and McKendrick, J. G. (1873a), On the physiological action of light. No. I, *J. Anat. Physiol.*, **7**: 275–278.
- Dewar, J. and McKendrick, J. G. (1873b), On the physiological action of light. No. II, *J. Anat. Physiol.*, **7**: 278–282.
- Dewar, J. and McKendrick, J. G. (1876), On the physiological action of light, *Trans. Roy. Soc. of Edinb.*, **27**: 141–166.
- Du Bois-Reymond, E. (1849), Untersuchungen über Thierische Elektrizität, Zweiter Band, Erste Abtheilung, Berlin, Georg Reimer.
- Einthoven, W. (1902), Galvanometrische registratie van het menschelijk electrocardiogram. In Herinneringsbundel Professor S. S. Rosenstein, pp. 101–107, Leiden, Eduard Ijdo.
- Einthoven, W. (1908), Weiteres über das Elektrokardiogramm, *Pflügers Archiv.*, **122**: 517–584.
- Einthoven, W. and Jolly, W. A. (1908), The form and magnitude of the electrical response of the eye to

- stimulation by light at various intensities, *Quart. J. Exp. Physiol.*, **1**: 373–416.
- Garten, S. (1907), Die Veränderungen der Netzhaut durch Licht, In Graefe-Saemisch Handbuch der gesamten Augenheilkunde, pp. 213–250, Leipzig, Wilhelm Engelmann.
- Gasser, H.S. and Erlanger, J. (1922a), A study of the action currents of nerve with the cathode ray oscillograph, *Amer. J. Physiol.*, **58**: 497–524.
- Gasser, H.S. and Erlanger, J. (1922b), The components of action currents obtained from nerves, *Amer. J. Physiol.*, **59**: 417–418.
- Gotch, F. (1903), The time relations of the photoelectric changes on the eyeball of the frog, *J. Physiol.*, **29**: 388–410.
- Gotch, F. (1904), The Time-relations of the photo-electric changes produced in the eyeball of the frog by means of coloured light, *J. Physiol.*, **31**: 1–9.
- Granit, R. (1933), The components of the retinal action potential in mammals and their relation to the discharge in the optic nerve, *J. Physiol.*, **77**: 207–239.
- Granit, R. (1947), *Sensory Mechanisms of the Retina*, London, Oxford University Press.
- Granit, R. (1955), *Receptors and sensory perception*, New Heaven, Yale University Press.
- Granit, R. and Riddell, L. A. (1934), The electrical responses of dark-adapted frogs' eyes to rhythmic and continuous stimuli, *J. Physiol.*, **81**: 1–28.
- Hartline, H.K. (1925), The electrical response to illumination of the eye in intact animals, including the human subject, and in decerebrate preparations, *Am. J. Physiol.*, **73**: 600–611.
- Himstedt, F. and Nagel, W. A. (1902), Versuche über die Reizwirkung verschiedener Strahlenarten auf Menschen- und Thieraugen, In *Festschrift der Albrecht-Ludwigs- Universität in Freiburg zum Fünfzigjährigen Regierungsjubiläum Seine Königlichen Hoheit des Grossherzogs Friedrich*, pp. 257–274. Freiburg i. Br., C. A. Wagner's Universitäts-Buchdruckerei.
- Holmgren, F. (1865), Method att objectivera effecten av ljusintryck på retina. *Upsala Läkaref. Förh.*, **1**: 177–191.
- Holmgren, F. (1870), Om Retinaströmmen, *Upsala Läkaref. Förh.*, **4**: 419–455.
- Holmgren, F. (1880), Über die Retinaströme, *Untersuch. Physiol. Inst. Der Univ. Heidelberg*, **3**: 278–326.
- Kahn, R. and Löwenstein, A. (1924), Das Elektoretinogramm, *Graefes Arch. Clin. Exp. Ophthalmol.*, **114**: 304–325.
- Karpe, G. (1946), The basis of clinical electroretinography, *Acta Ophthalmol.*, **24** (Suppl.): 1–118.
- Karpe, G. (1948), Apparatus and method for clinical recording of the electroretinogram, *Docum. Ophthalmol.* **2**: 268–267.
- Kohlrausch, A. (1931), Elektrische Erscheinungen am Auge, In A. Bethe *et al.* (eds), *Handbuch der normalen und pathologischen Physiologie (Receptionsorgane II, Photoreceptoren II)*, pp. 1393–1496, Berlin, Springer-Verlag.
- Kris, C. (1958), Corneo-fundal potential variations during light and dark adaptation, *Nature*, **182**: 1027–1028.
- Kris, C. (1959), Electrical measurement of eye movement during perception, *Acta Psychol.*, **15**: 247–249.
- Kühne W. and Steiner J (1880), Ueber das electromotorische Verhalten der Netzhaut, *Untersuch. Physiol. Inst. Univ. Heidelberg*, **3**: 327–377.
- Kühne, W. and Steiner, J. (1881), Ueber electrische Vorgänge im Sehorgane, *Untersuch. Physiol. Inst. Univ. Heidelberg*, **4**: 64–160.
- Lehmann, G. and Meesmann, A. (1924), Über das Bestehen eines Donnan-Gleichgewichtes zwischen Blut und Kammerwasser bzw. Liquor cerebrospinalis, *Pflügers Arch.*, **205**: 210–232.
- Leksell, L. (1939), Clinical recording of eye movements, *Acta Chir. Scand.*, **82**: 262–270.
- Lippmann, G. (1873), Relation entre les phenomenes electriques et capillaries, *C. R. Séances Acad. Sci. (Ser. C)*, **76**: 1407–1408.
- Marg, E. (1951), Development of electro-oculography; standing potential of the eye in registration of eye movement, *AMA Arch. Ophthalmol.*, **45**: 169–185.
- Miles, W. R. (1939a), The steady polarity potential of the human eye, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **25**: 25–36.
- Miles, W. R. (1939b), Reliability of measurements of the steady polarity potential of the eye, *Proc. Natl. Acad.*

- Sci., **25**: 128–137.
- Murakami, M. and Kaneko, A. (1966), Subcomponents of PIII in cold-blooded vertebrate retinæ, *Nature*, **10**: 103–104.
- Nagel, W. A. (1904), Die Wirkungen des Lichtes auf die Netzhaut, In J. Vonkries *et al.* (eds.); *Handbuch der Physiologie des Menschen Dritter Band*, pp. 91–108, Braunschweig, Druck und verlag von Friedrich Vieweg und Sohn.
- Noell, W. K. (1951), The effect of iodoacetate on the vertebrate retina, *J. Cell. Comp. Physiol.*, **37**: 283–307.
- Noell, W. K. (1952a), The impairment of visual cell structure by iodoacetate, *J. Cell. Comp. Physiol.*, **40**: 25–55.
- Noell, W. K. (1952b), Azide-sensitive potential difference across the eye-bulb, *Am. J. Physiol.*, **170**: 217–238.
- Noell, W. K. (1953), Studies on the electrophysiology and metabolism of the retina, United States Air Force School of Aviation Medicine. Randolph Field, Texas. Project No. 21-1201-0004. Report No. 1.
- Noell, W. K. (1954), The origin of the electroretinogram, *Am. J. Ophthalmol.*, **38**: 78–90.
- Noell, W. K. (1963), Cellular physiology of the retina, *J. Opt. Soc. Am.*, **53**: 36–48.
- Ottoson, D. and Svaetichin, G. (1953), Electrophysiological investigations of the origin of the ERG of the frog retina, *Acta Physiol. Scand.*, **29** (Suppl. 106): 538–564.
- Piper, H. (1911), Über die Netzhautströme, *Arch. Anat. Physiol. Physiol. Abt.*, 85–132.
- Riggs, L. A. (1941), Continuous and reproducible records of the electrical activity of the human retina, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **48**: 204–207.
- Schott, E. (1922), Über die Registrierung des Nystagmus und anderer Augenbewegungen vermittle des Saitengalvanometers, *Deutsch. Arch. Klin. Med.*, **140**: 79–90.
- Steinberg, R. H., Frishman, L. J. and Sieving, P. A. (1991), Negative components of the electroretinogram from proximal retina and photoreceptor, *Prog. Ret. Res.*, **10**: 121–160.
- Svaetichin, G. (1953), The cone action potential, *Acta Physiol. Scand.*, **29** (Suppl. 106): 565–600.
- Svaetichin, G. (1956), Spectral response curves from single cones, *Acta Physiol. Scand.*, **39** (Suppl. 134): 17–46.
- Tomita, T. (1950), Studies on the intraretinal action potential. Part I. Relation between the localization of micro-pipette in the retina and the shape of the intraretinal action potential, *Jpn. J. Physiol.*, **1**: 110–117.
- Tomita, T. and Funaishi, A. (1952), Studies on the intraretinal action potential with a low resistance Micro-electrode, *J. Neurophysiol.*, **15**: 75–84.
- Tomita, T. and Torihama, Y. (1956), Further study of the intraretinal action potentials and on the site of ERG generation, *Jpn. J. Physiol.*, **6**: 118–136.
- Tomita, T., Funaishi, A. and Shino, H. (1951a), Studies on the intraretinal action potential. Part II Effects of some chemical agents upon it, *Jpn. J. Physiol.*, **2**: 147–153.
- Tomita, T., Mizuno, H. and Ida, T. (1951b), Studies on the intraretinal action potential. Part III Intraretinal negative potential as compared with b-wave in the ERG, *Jpn. J. Physiol.*, **2**: 171–176.
- Tomita, T., Murakami, M. and Hashimoto, Y. (1960), On the R membrane of the frog's eye: Its localization, and relation to the retinal action potential, *J. Gen. Physiol.*, **43**: 81–94.
- Waller, A. D. (1900), On the retinal currents of the frog's eye, excited by light and excited electrically, *Phil. Trans. Roy Soc. B*, **193**: 123–163.
- Waller, A. D. (1903), *The Signs of life from their electrical aspect*, London, John Murray.
- Westerlund, A. (1907), Studien über die photoelektrischen Fluktuationen des isolierten Froschauges unter Einwirkung von Stickstoff und Sauerstoff, *Skand. Arch. Physiol.*, **19**: 337–355.

参 考 資 料

- 後藤昌義 (1957), 人体の電気現象とその応用, 永井書店.
- 勝木保次 (編) (1967), 生理学体系VI 感覚の生理学, 医学書院.

加藤元一 (1933), 生理学 (上巻・下巻), 南江堂.
 川喜多愛郎 (1977), 近代医学の史的基盤 (上巻・下巻), 岩波書店.
 岩瀬善彦, 玉重三男, 古河太郎 (編) (1970), 生物電気, 南江堂.
 本川弘一 (1950), 医学生物学電気的実験法——その手ほどきから——, 南山堂.
 本川弘一 (1952), 電気生理学, 岩波書店.
 問田直幹, 内菌耕二 (編) (1971), 新生理学 上巻, 医学書院.
 日本生理学会 (編) (1952), 生理学講座 [生体の電気現象 (I)], 生理学講座刊行会.
 須田 勇, 畠山一平, 南雲仁一, 印東太郎 (編) (1975), 生理学実験法, 医学書院.
 田崎京二, 大山 正, 樋渡涓二 (編) (1979), 視覚情報処理——生理学・心理学・生体工学——, 朝倉書店.
 外山敬介 (2010), ノーベル賞の生命科学入門 脳と神経のはたらき, 講談社.
 内菌耕二 (1967), 生体の電気現象 (I), コロナ社.

[注]

- 1) Du Bois Reymond (1849) は角膜側と視神経断面に濾紙電極を接触させ、この電極の出力を自作の検流計に接続し、眼球外を角膜側から視神経断面 (後極側) に流れる電流を観察した (眼球内では、後極側 [強膜側] から角膜側に電流が流れている。), この電流は眼球の常在電流と呼ばれた。その後, Holmgren (1880) と Kühne & Steiner (1880) の実験により、眼球の常在電流の起源が網膜にあることが示唆された (網膜の常在電流)。さらに, Holmgren (1865, 1870) Dewar & McKendrick (1873a, b) の実験により、眼球の常在電流が光刺激によって変化することが明らかにされた。その後の研究によって、光刺激に伴う電気的変化の様子とその起源が主に網膜にあることが示された。(Einthoven & Jolly, 1908; Granit, 1933; Granit & Riddell, 1934)。Granit (1933) の研究の少し前頃から、弦電流計を利用した実験では被検体と検流計の間に増幅器が加えられ、光照射に伴う電気的変化が電位表示されるようになった (第4図参照) (増幅器を使用することで、検流計そのものの電流感度を上げる必要がなくなった。)。光刺激に伴う電気的変化は網膜活動電位 (電流測定の場合、網膜活動電流) と呼ばれ、眼球の常在電位 (あるいは網膜常在電位) は網膜静止電位 (電流測定の場合、網膜静止電流) と呼ばれた。
- 2) 毛細管内で接触する2種類の液体の間に電圧を加えると、表面張力が変化して表面の移動が生じる (毛細電気現象)。これを利用して電位差を測定する装置を毛細管電位計という。ガラス管を引き延ばして毛細管を作製し、この中に水銀を入れ、この先端を10%硫酸溶液中に浸す (毛細管内で水銀と硫酸溶液が接して存在する。)。硫酸溶液を満した容器にも水銀を加える。毛細管内の水銀ならびに硫酸容器内に沈んだ水銀のそれぞれに白金線を接続し、それぞれに不分極電極を繋ぐ。測定では、不分極電極を被検体に接触させる。被検体に接触させた電極間に電位差が生ずれば、毛細管内の水銀面に上下動が生じる。この水銀の移動は微弱な電気的変化にも応じ、しかも従来の検流計に比べて時間分解能にも優れていた。毛細管内の水銀の移動は微小であるため、水銀面を顕微鏡で拡大し写真撮影した。
- 3) 磁場内にある導線に電流が流れれば、この導線はFlemmingの法則 (左手の法則) に従い変位する。これを利用して電流を測定する装置を弦電流計という (電流感度は弦の張り方 [張る強さ] で調節可能であった。)。強力な電磁石の間に張った極めて細い弦線 (鍍銀した2 μm 程の水晶線 [石英の糸]) の両端に白金線を接続し、それぞれに不分極電極を繋ぐ。測定では、不分極電極を被検体に接触させる。被検体に接触させた電極間に電位差が生じ弦線に電流が流れれば、この線は変位する。高強度のアーキ燈が発する光を、顕微鏡のレンズを介して弦線に集中させ、この光を別の顕微鏡のレンズを用いて拡大してスクリーンの上に影を作らせ、この影を写真撮影した。この弦電流計は従来型の検流計 (毛細管電位計も含む) に比べ電流感度が顕著に高く、そして時間分解能にも優れていた。
- 4) Thomson 型検流計の針 [磁針] は、2個のコイルの間に絹糸でつり下げられている。この磁針に鏡 (ガラスに鍍銀して作製した鏡) が取り付けられており、コイルに電流が流れると、磁針と同時に鏡も動く。この検流計では、鏡に照射した光 (ロウソクの炎) が反射してスケール上を移動するように設計されている。このため、反射型検流計とも呼ばれる。この反射光の移動を読むことで電流変化を知ることができる。
- 5) Peter Guthrie Tait (1831~1901) は、1860年以降エジンバラ大学の自然科学の教授を務めた。数学と実験物理学が専門であり、四元法、熱力学や気体運動論に関する研究を行った。William Thomson (1824~1907) (爵位であるケルヴィン卿 [男爵] で知られている。) との共著である『自然科学について (Treatise

- on Natural Philosophy)』(1867)が有名である。数理物理学を樹立したことで知られている。
- 6) 1897年, Karl Ferdinand Braun (1850~1918)による陰極線管(ブラウン管)の発明後, これは多くの科学分野で応用された。生理学分野では, Herbert Spencer Gasser (1888~1963)と Joseph Erlanger (1874~1965)が陰極線オシロスコープを開発して, 神経の活動電流の波形観察に用いた (Gasser & Erlanger, 1922a, b)。陰極線オシロスコープと同時に真空管を用いた増幅器が開発され, コイルと磁針を利用した検流計の利用は次第に減少していった。
 - 7) Waller (1900)は網膜静止電位が摘出眼球作製時の負傷によって生じるという説, Nagel (1904)は網膜静止電位を網膜活動電位の一種とみなす説, Garten (1907)は網膜内にある感光物質の分泌作用と関係しているとする説, Lehman & Meesmann (1924)は血液と眼房水との間のDonnan電位が網膜静止電位であるとする説, Kohlrausch (1931)は網膜を構成する各神経細胞の発生する電気的変化の総和によるという説,あるいはTomita (1950)やNoell (1953)は網膜内での代謝が関係しているという説などが存在した。しかし, 未だ明らかになっていない。
 - 8) ヒトでの測定は困難を極めたようで, 論文中に, 「被験者に厳しい訓練をすれば, 眼球の不随意運動に伴って発生する電気的変動を大幅に減らすことができるだろう。さらに, 被験者が眼球を動かさないよう集中して一点を見つめることができるようになれば, 他の動物で観察されたような電気的変化を観察することができるに違いない。とはいえ, 現段階で, ヒト眼球を対象に電気的記録を得るにはあまりに労力がかかり過ぎるし, 何よりも不確実である。」と述べている。つまり, 論文中に報告されている測定法はヒト眼球から網膜活動電位を得るために適していなかったことを物語っている。