

4. Nakahara, H., Amari, S., Richmond, B.J.: A comparison of descriptive models of a single spike train by information geometric measure. *Neural Comput.* **18** (2006) 545–568.
5. Uchida, G., Fukuda, M., Tanifuji, M.: Correlated transition between two activity states of neurons. *Phys. Rev. E* **73** (2006) 031910.
6. Uchida, G., Fukuda, M., Sato, T., Nakahara, H., Tanifuji M.: Stimulus-dependent modulation of synchronous activities of neurons in area TE of anesthetized macaque monkeys. (submitted).

機能的眼底画像解析 —網膜内因性信号計測法 FRG—

国立病院機構東京医療センター感覚器センター 角田和繁

はじめに

眼底の画像診断技術は近年めざましい進歩をとげており、なかでも網膜微細構造の観察を可能にする光干渉断層計(OCT)は、網膜疾患の診断、治療に関する従来の常識を一変させるほど臨床応用価値の高いものであった。一方で、網膜の神経機能を客観的に評価する検査法は今のところ網膜電図(ERG)に限られており、網膜の神経機能をイメージングすることは眼底画像解析の究極の目標ともいえるものである。

FRG とは

著者らは大脳皮質における機能的マッピングの手法である光学計測法 optical imaging を眼底に応用し、網膜内因性信号計測法 functional retinography (FRG) という網膜機能のイメージング法を世界に先駆けて開発した¹⁻³⁾。

神経活動に伴って神経組織の微細構造が変化すると、そこから戻ってくる光の強さ(光反射率)はその活動の強さに応じて変化する。FRG とはフラッシュ刺激に対する網膜の神経活動を、光の反射率変化を利用して2次元的にマッピングする技術である。信号の発生起源として、網膜外層の光散乱変化(視

反応に伴う細胞の体積変化など)、および網膜内層の血流増加などが考えられている。

まだ開発途上にある技術であるが、将来の臨床応用に向けて大きな可能性をもった、機能的眼底画像解析法である。

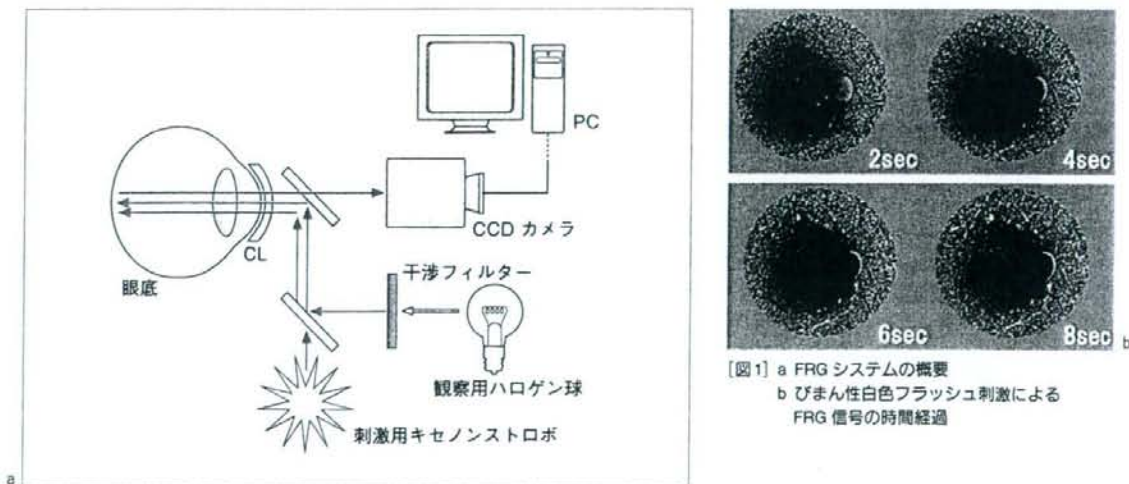
測定方法

サルを用いた動物実験においては、全身麻酔で眼球運動を停止させ、眼底カメラを改良した観察系を用いて眼底を CCD カメラでモニターする(図 1a)。眼底観察には近赤外光(870 nm)を用いる。測定開始から 0.5 秒後に眼底後極部を白色キセノンフラッシュ(1 msec)にて刺激し、観察光の網膜反射率を刺激前後で比較する。刺激後に画像の明るさが変化している部分が神経活動の起きた領域に相当し、通常は神経活動の高い領域が反射率低下のために暗く見える(図 1b)。

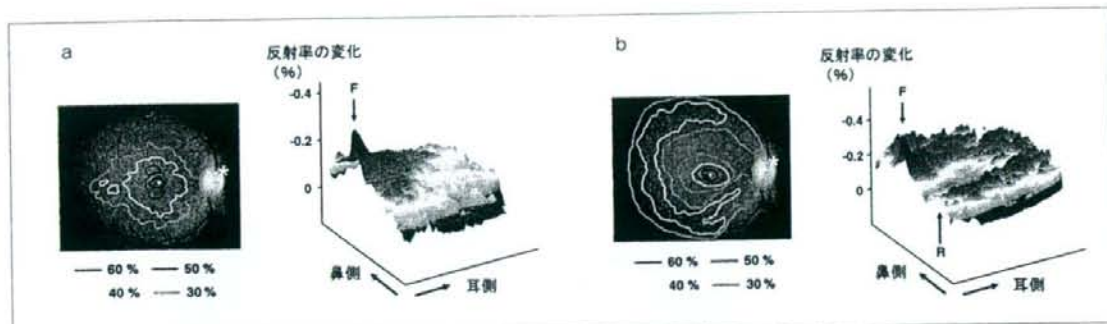
FRG で何がわかるか

1) 視細胞の神経活動分布¹⁾

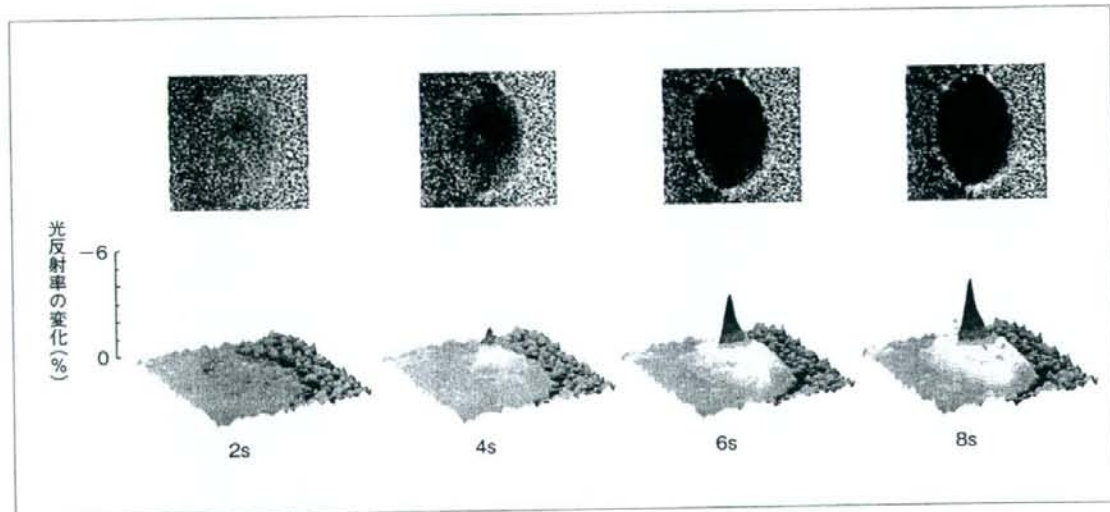
白色フラッシュ刺激によって視細胞が活動すると、網膜全体の反射率が早期に低下し早い内因性信号が観察される(ピーク: 150 msec)。これは網膜



【図1】 a FRG システムの概要
b びまん性白色フラッシュ刺激による FRG 信号の時間経過



[図2] びまん性白色フラッシュ刺激によるFRG信号分布(a 明順応下, b 暗順応下, それぞれ右に下半網膜の3次元トポグラフィーを示す). Fは中心窩, Rはrod ring.



[図3] 視神経乳頭部におけるFRG信号のトポグラフィー

外層の光散乱変化を反映している。信号強度を疑似カラーで表示すると、明順応下では中心窩に信号のピークを認め、周辺部に向かって減少するが(図2a)、暗順応下では中心窩に加えて周辺部にドーナツ状のピークを認める(図2b)。内因性信号のピークは中心窩では錐体視細胞、周辺部では杆体視細胞の解剖学的な分布に一致している。

2) 網膜内層、視神経乳頭上の血流変化²⁾

レーザードップラ血流計を用いた研究により、光刺激によって網膜中心動脈の血流が一過性に増加することが知られている。フラッシュ刺激によって生じる内因性信号のうち遅い反応は網膜内層の神経活動による血流増加を反映しており、眼底後極部、および視神経乳頭で観察される(ピーク: 5~10 sec)。図3は刺激後に視神経乳頭の血流が増加する様子を示しており、特に中心動脈の部位で高いピーク

がみられる。

3) 網膜局所刺激による FRG 信号²⁾

網膜に局所フラッシュ刺激を行うと、刺激部位に相当する網膜に局限した内因性信号を記録することができる(図4)。これはFRGの空間解像度の高さを示している。

4) FRGとERGの比較²⁾

同一の刺激に対するFRGとERGの信号を比較すると、暗順応状態では、中心窩を除く網膜面の遅い反応と視神経乳頭部の反応の閾値が、ERG-t波の閾値とほぼ一致している。これはFRGがERGと同程度に鋭敏な感度を持つ検査法であることを示している。なお、覚醒下のヒトでも局所フラッシュ刺激により網膜内因性信号は測定可能であるが、現在のところ、詳細なマッピングを行うことはまだ困難である。

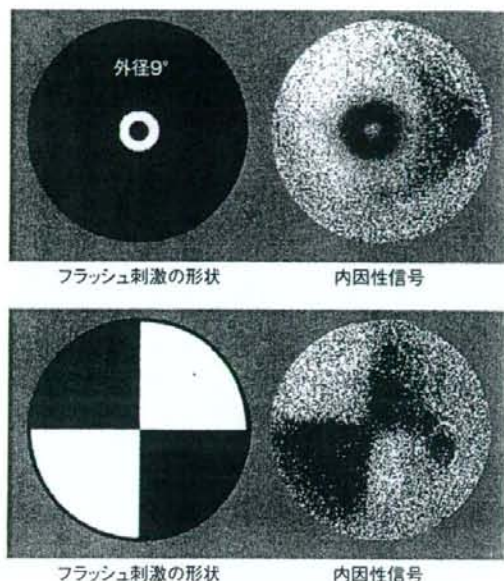
■おわりに

FRGの利点として、非侵襲的であること、空間分解能が高いこと、測定時間が短いことなどがあげられる。問題点としては、ヒトの測定時に生じる固視微動等により、画質が著しく低下することであり、現在それを克服すべく研究を行っている。将来臨床応用が可能になれば黄斑変性症や網膜色素変性症などさまざまな網膜疾患において精度の高い他覚的機能評価が可能になると期待されている。

さらにFRG以外の機能的眼底画像解析法として、OCTを利用して神経機能評価を行う研究が注目されている。これは2002年に理化学研究所のMaheswariらによって初めて提唱されたFunctional OCT³⁾という概念を網膜に応用したものであり、臨床応用に向けた研究が現在盛んに行われている⁴⁾。網膜の神経機能をイメージングするという研究は新しい診断法として高く注目されており、将来は新たな網膜機能評価法として確立される日が来ることが期待される。

文献

- 1) Tsunoda, K et al: Mapping cone- and rod-induced



【図4】局所網膜刺激によるFRG信号のトポグラフィー
左のシェーマで白く描かれた部位が刺激領域を示す。

- retinal responsiveness in Macaque retina by optical imaging. Invest Ophthalmol Vis Sci 45:3820-3826, 2004
- 2) Hanazono, G et al: Intrinsic signal imaging in Macaque's retina reveals different types of flash-induced light reflectance changes of different origins. Invest Ophthalmol Vis Sci 48:2903-2912, 2007
- 3) Inomata, K et al: Distribution of retinal responses evoked by trans-scleral electrical stimulation detected by intrinsic signal imaging in Macaque monkeys. Invest Ophthalmol Vis Sci (in press)
- 4) Maheswari, RU et al: Implementation of optical coherence tomography (OCT) in visualization of functional structures of cat visual cortex. Opt Comm 202: 47-54, 2002
- 5) Srinivasan, VJ et al: In vivo measurement of retinal physiology with high-speed ultrahigh-resolution optical coherence tomography. Opt Lett 31: 2308-2310, 2006

煙草スモキングはどのくらい悪いのか？

How Bad is Smoking for the Eyes?

篠田 啓*

はじめに

2000~2010年を目途としてわが国(厚生労働省)が政策として取り組んでいる21世紀における国民健康づくり運動(健康日本21)のなかで、喫煙は生活習慣病およびその原因となる生活習慣などの9つの課題のうちの一つとして取り上げられている。児童の喫煙、妊婦の喫煙、また受動喫煙の問題など課題はきわめて広範囲にわたるが、運動推進の壁の一つは健康への煙草の害についての知識不足であろう。煙草は、肺癌など多くの癌や、虚血性心疾患、脳卒中などの生命を脅かす疾患、低出生体重児や流・早産など妊娠に関連した異常の危険因子である¹⁾ことは周知されているが、眼疾患への大きな影響についてのわれわれ医師、まして一般市民の知識はそのインパクトを考慮すると必ずしも十分とはいえない。

英国で16~18歳を対象に行われた調査²⁾では、喫煙が強い危険因子となっている疾患として認識されていた割合は、卒中15%、心疾患27%、肺癌81%、そして盲5%であり、これに聾を加えた5つの病気に対して感じる恐怖を1~5点でスコア化した場合、図1のように、盲は他の4つに比べて有意に高くランクされた。さらに、初期症状が現れたら喫煙をやめると答えた割合は盲が90%で、他の疾患の卒中80%、心疾患80%、肺癌78%に比べて有意に高かった。

本稿では、種々の眼疾患と煙草の関連、および眼組織に対する煙草の影響について³⁾紹介する。

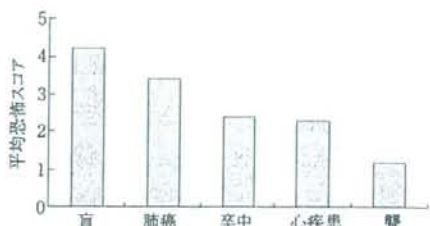


図1 各種疾患に対する恐怖スコア(英国での調査)
英国で16~18歳を対象に行われた調査において、グラフ中の各疾病に対して感じる恐怖を1~5点でスコア化した場合、盲は他の4つに比べて有意に高くランクされた。
(文献2より改変)

I 喫煙と各種眼疾患

1. 甲状腺眼症³⁾

喫煙は甲状腺眼症発症や眼症の程度の危険因子である。ヨードの摂取と合成の阻害、ベンゾピレンを介した交感神経系への作用、血清中の甲状腺ホルモンへの影響、低酸素による影響などが考えられている。

2. 斜視⁴⁾

母親の喫煙は子供の内斜視や外斜視発症の危険因子であり、原因として中枢神経での眼球運動制御の発達異常が推測されている。

* Kei Shinoda: 大分大学医学部脳・神経機能統御講座感覚・運動分野眼科学教室
[別刷請求先] 篠田 啓: 〒879-5593 由布市狭間町医大ヶ丘1丁目1番地 大分大学医学部脳・神経機能統御講座感覚・運動分野眼科学教室

表1 喫煙と白内障に関する研究

研究	国	対象人数	オッズ比	
Cross-sectional study				
Beaver Dam Eye Study ¹⁴⁾	米国	4,926	核白内障	男 1.09 女 1.09
			皮質白内障	男 1.00 女 1.02
			後囊下白内障	男 1.05 女 1.06
Blue Mountain Eye Study ¹¹⁾	豪州	3,654	核白内障	1.3
			皮質白内障	1
			後囊下白内障	1.2
Cohort study				
Beaver Dam Eye Study ¹⁵⁾ 5年追跡調査	米国	3,684	核白内障	1.05
			皮質白内障	1.04
			後囊下白内障	1.03
Case control study				
Kato et al ¹⁶⁾	日本	Case 212	オッズ比	
		Control 212	男 0.29 女 0.84	

3. 眼表面への影響⁵⁾

涙液層破壊時間の短縮、涙液の基礎分泌量低下、涙液のリゾチームの低下、lipid layerの不整、角膜結膜知覚低下などが報告され、喫煙による酸化ストレスを介した機序が探求されている。受動喫煙により涙液中のニューロトロピン(神経栄養因子)が減少する。

4. 角膜移植術後の拒絶反応⁶⁾

米国の大規模な調査では、喫煙者は非喫煙者に比べて拒絶反応の率や不全の率が有意に高かったが、拒絶による不全に限ると両者の間で差を認めなかった。

5. 白内障^{3,7)}

多くの疫学調査が、喫煙は白内障、特に核白内障発症の強い危険因子であると報告している。後囊下白内障とは弱い関連があり、皮質白内障との関連は明らかではない。Blue Mountain Eye Study(表1)では、シガレットよりパイプのほうが核白内障との関連が高いとしている。その他、用量依存的に発症率が高まる。禁煙によってある程度リスクが下がるなどのデータも多い。内因性抗酸化物質の低下による、酸化ストレスに対する防御能の低下、煙草が含有する重金属(カドミウム、鉛、銅)のレンズへの直接の毒性などが考えられている。

6. 加齢黄斑変性症^{3,8,9)}

加齢、高血圧、動脈硬化、紫外線、血清ビタミン低値、亜鉛不足、遠視、虹彩低色素、皮膚弾性線維変性、中心性漿液性網脈絡膜症の既往、特定の遺伝子多型などが危険因子として報告されているが、なかでも人種を越えて共通しているのは加齢と喫煙である。

わが国の大規模な population-based cohort studyである久山町研究¹⁰⁾(表2)でも、加齢、男性、喫煙が加齢黄斑変性(AMD)の危険因子であると報告している。

また、世界の大規模な疫学研究の代表である Beaver Dam Eye Study, Rotterdam Study, Blue Mountain Eye Studyでは、喫煙者と非喫煙者の間で約3倍の危険性(オッズ比)があるとしている(表2)。また禁煙者(以前は喫煙者)におけるAMDの発症のリスクは非喫煙者(まったく喫煙歴のない人)に比べると高いものの喫煙者(現在も喫煙中)に比べると有意に低い。Beaver Dam Eye Study, Blue Mountain Eye Studyの5~15年の追跡調査では禁煙者と非喫煙者であり差はなく、Macular Photocoagulation Studyによると、脈絡膜新生血管に対するレーザー治療後の再発率は喫煙者のほうが非喫煙者に比べて高い。

近年注目されているAMDの遺伝的背景と喫煙について、ある補体因子(complement factor H)の遺伝子多

表2 喫煙と加齢黄斑変性に関する population-based study

研究	国	対象人数		オッズ比	
Cross-sectional study					
Beaver Dam Eye Study ²¹⁾	米国	4,771	初期 AMD	喫煙歴のある人 vs ない人 男 1.29 女 1.02	
			新生血管 AMD	喫煙中 vs 禁煙した or 喫煙歴なし 男 3.29 女 2.50	
Blue Mountain Eye Study ²²⁾	豪州	3,654	初期 AMD	1.89	
			進行期 AMD	4.46	
			萎縮性 AMD	4.94	
			新生血管 AMD	3.26	
Rotterdam Eye Study ²³⁾	オランダ	6,174	萎縮性 AMD	1.5	
			新生血管 AMD	3.6	
Hisayama Study ¹⁹⁾	日本	961	初期および進行期 AMD	2.22	
Cohort study					
相対危険度					
Beaver Dam Eye Study 5年追跡調査 ²⁴⁾	米国	3,583	初期 AMD の発症	男 1.53 女 0.74	
			AMD の進行	男 2.34 女 1.00	
			10年追跡調査 ²⁵⁾	初期 AMD の発症	1.37
			AMD の進行	1.34	
Blue Mountain Eye Study 5年追跡調査 ²⁷⁾	豪州	2,335	初期 AMD の発症	喫煙中 vs 禁煙した or 喫煙歴なし 0.94	
			進行期 AMD の発症	2.5	
			萎縮性 AMD の発症	3.6	
			新生血管 AMD の発症	1.6	

AMD: 加齢黄斑変性症。

型をもつ喫煙者とはたない非喫煙者に比べて、末期の AMD 罹患の危険が 34 倍もあると報告された¹¹⁾。

これらの機序については酸化ストレスをはじめ、①黄斑色素濃度を減少させる、②血清中のニコチンなどにより網膜内のホスホリパーゼ A₂ が活性化され炎症のメディエーターであるプロスタグランジンやロイコトリエンなどの前駆物質であるアラキドン酸の生成を促進する、③ターゲルに多く含まれるヒドロキノンとの関与、④マクロファージの活性化などがある。

7. 糖尿病網膜症^{12,13)}

30 年以上前から喫煙が糖尿病網膜症の増悪因子である。喫煙量の多いものに増殖糖尿病網膜症が多いなど、喫煙と糖尿病網膜症の正の相関を示すデータが多く報告されている。一方、前向き研究も含め大多数例の調査で有意な相関を認めないという報告も相つぎ、現在は結論

が出ていない。喫煙者の平均寿命が短く、したがって疫学調査では増殖糖尿病網膜症にまで至る例が低く見積られる可能性があるかもしれない。また、喫煙はインスリン抵抗性を高める、HbA_{1c} を上昇させる、網膜血流の autoregulation を障害するなどの報告もある。

8. 緑内障³⁾

開放隅角緑内障や高眼圧症については、喫煙が疾患の危険因子であるという報告と関連性はないという報告があるが、現時点では明らかではない。

9. 視神経症³⁾

現在はほとんどみられなくなったが、煙草・アルコール性弱視¹⁴⁾ は、ヘビースモーカー、慢性アルコール症にみられる視力障害で、中心視野障害、進行すると視神経萎縮となる。基本的には栄養障害性視神経症で、ビタ

ミンB群欠乏やシアン化合物の蓄積その両者、その他の煙草に含まれる物質の影響とされている。

その他、視神経炎^{3,15)}に対する煙草の関与は議論が分かっている。非動脈炎性の虚血性視神経症¹⁶⁾については、煙草と強い関連のある脳血管発作とは異なり、喫煙は危険因子とはいえず、これは血栓性か血流障害かによる違いとされている。Leber病¹⁷⁾はミトコンドリア遺伝子の異常による遺伝性視神経症であるが、喫煙は発症のリスクを高め重篤さにも相関するという報告も多い。

10. その他

眼サルコイドーシス¹⁸⁾について、煙草産業に従事する女性はその発症率が高く、煙草に含まれる塵が何らかの免疫反応に関与している可能性がある。裂孔原性網膜剥離¹⁹⁾は喫煙者ではその危険率が低い、両親のいずれかが喫煙者の場合子供の屈折異常²⁰⁾は遠視が多い、妊婦の喫煙は子供の視覚誘発電位(VEP)で潜時の延長を生じる²¹⁾、喫煙は網膜静脈閉塞症²²⁾、種々の結膜炎^{23,24)}の危険因子である、などの報告がある。

II 喫煙の視機能への影響

1. 網膜への影響

喫煙によって多局所網膜電図(ERG)において固視点付近(中心部0~18°付近)の応答密度の振幅の増加と潜時の短縮(P1およびN1成分ともに)が生じる²⁵⁾。ニコチンの神経伝達への影響や網膜、視神経、脈絡膜循環への影響が推測されているがいまだ明らかではない。また、喫煙による視神経乳頭部、黄斑部の血流速度の上昇²⁶⁾や網膜血流量の低下²⁷⁾などが報告されている。

2. 視神経への影響

喫煙による限界フリッカー値の増加²⁸⁾、VEPの振幅低下²⁹⁾、pattern ERGの振幅増加潜時短縮³⁰⁾などが報告されている。

おわりに

煙草に含まれる4,000以上の物質の多くが人体に有毒な作用があるといわれている。最初に紹介した英国での調査から、喫煙が眼に及ぼす影響に関する認知度の低さ

と、ひとたび認識した際に禁煙しようとする意識の高さを鑑みると、眼科医の立場からの禁煙の啓蒙は非常に効果的であると思われる。煙草による眼疾患へのpositiveな影響はまだ多くあると考えられ、また、副流煙による眼表面への影響も近年わかってきた。今後は疫学調査のデータを踏まえ、眼疾患との関わりにおける機序の解明、さらには病態や新しい治療のきっかけとなる研究が待たれる。

文 献

- 1) Hirayama T: Lifestyle and Mortality: A Large-Scale Census Based Cohort Study in Japan. Contributions to Epidemiology and Biostatistics, Vol. 6. Karger, Basel, 1990
- 2) Moradi P, Thornton J, Edwards R et al: Teenagers' perceptions of blindness related to smoking: a novel message to a vulnerable group. *Br J Ophthalmol* 91: 605-607, 2007
- 3) Solberg Y, Rosner M, Belkin M: The association between cigarette smoking and ocular diseases. *Surv Ophthalmol* 42: 535-547, 1998
- 4) Chew E, Remaley NA, Tamboli A et al: Risk factors for esotropia and exotropia. *Arch Ophthalmol* 112: 1349-1355, 1994
- 5) Altinors DD, Akca S, Akova YA et al: Smoking associated with damage to the lipid layer of the ocular surface. *Am J Ophthalmol* 141: 1016-1021, 2006
- 6) Maguire MG, Stark WJ, Gottsch JD et al: Risk factors for corneal graft failure and rejection in the collaborative corneal transplantation studies. Collaborative Corneal Transplantation Studies Research Group. *Ophthalmology* 101: 1536-1547, 1994
- 7) Kelly SP, Thornton J, Edwards R et al: Smoking and cataract: review of causal association. *J Cataract Refract Surg* 31: 2395-2404, 2005
- 8) de Jong PT: Age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 355: 1474-1485, 2006
- 9) Thornton J, Edwards R, Mitchell P et al: Smoking and age-related macular degeneration: a review of association. *Eye* 19: 935-944, 2005
- 10) Miyazaki M, Kiyohara Y, Yoshida A et al: The 5-year incidence and risk factors for age-related maculopathy in a general Japanese population: the Hisayama study. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 46: 1907-1910, 2005
- 11) Despret DD, Klaver CC, Witteman JC et al: Complement factor H polymorphism, complement activators, and risk of age-related macular degeneration. *JAMA* 296: 301-309, 2006
- 12) 小川憲治: 喫煙と網膜症. 眼科プラクティス 7: 149, 2006

-
- 13) Paetkau ME : Diabetic retinopathy and smoking. *Lancet* **18** : 1098-1099, 1978
 - 14) Rizzo JF 3rd, Lessell S : Tobacco amblyopia. *Am J Ophthalmol* **116** : 84-87, 1993
 - 15) Perkin GD, Bowden P, Rose FC : Smoking and optic neuritis. *Postgrad Med J* **51** : 382-385, 1975
 - 16) Hayreh SS, Jonas JB, Zimmerman MB : Nonarteritic anterior ischemic optic neuropathy and tobacco smoking. *Ophthalmology* **114** : 804-809, 2007
 - 17) Tsao K, Aitken PA, Johns DR : Smoking as an aetiological factor in a pedigree with Leber's hereditary optic neuropathy. *Br J Ophthalmol* **83** : 577-581, 1999
 - 18) Merritt JC, Ballard DJ, Checkoway H et al : Ocular sarcoidosis. A case-control study among black patients. *Ann NY Acad Sci* **465** : 619-624, 1986
 - 19) Austin KL, Palmer JR, Seddon JM et al : Case-control study of idiopathic retinal detachment. *Int J Epidemiol* **19** : 1045-1050, 1990
 - 20) Stone RA, Wilson LB, Ying GS et al : Associations between childhood refraction and parental smoking. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **47** : 4277-4287, 2006
 - 21) Scher MS, Richardson GA, Robles N et al : Effects of prenatal substance exposure : altered maturation of visual evoked potentials. *Pediatr Neurol* **18** : 236-243, 1998
 - 22) Klein R, Klein BE, Moss S : The epidemiology of retinal vein occlusion : the Beaver Dam Eye Study. *Trans Am Ophthalmol Soc* **98** : 133-141, 2000
 - 23) Hugg TT, Jaakkola MS, Ruotsalainen RO et al : Parental smoking behaviour and effects of tobacco smoke on children's health in Finland and Russia. *Eur J Public Health* 2007, in press
 - 24) Annesi-Maesano I, Oryszczyn MP, Raheison C et al : Increased prevalence of asthma and allied diseases among active adolescent tobacco smokers after controlling for passive smoking exposure. A cause for concern? *Clin Exp Allergy* **34** : 1017-1023, 2004
 - 25) Gundogan FC, Erdurman C, Durukan AH : Acute effects of cigarette smoking on multifocal electroretinogram. *Clin Exp Ophthalmol* **35** : 32-37, 2007
 - 26) Tamaki Y, Araie M, Nagahara M et al : Acute effects of cigarette smoking on tissue circulation in human optic nerve head and choroid-retina. *Ophthalmology* **106** : 564-569, 1999
 - 27) Robinson F, Petrig BL, Riva CE : The acute effect of cigarette smoking on macular capillary blood flow in humans. *Invest Ophthalmol Vis Sci* **26** : 609-613, 1985
 - 28) Larson PS, Finnegan JK, Haag HB : Observations on the effect of cigarette smoking on the fusion frequency of flicker. *J Clin Invest* **29** : 483-485, 1950
 - 29) Vazquez AJ, Toman JEP : Some interactions of nicotine with other drugs upon central nervous function. *Ann NY Acad Sci* **142** : 201, 1967
 - 30) Gundogan FC, Durukan AH, Mumcuoglu T et al : Acute effects of cigarette smoking on pattern electroretinogram. *Doc Ophthalmol* **113** : 115-121, 2006

小切開手術 (23 ゲージ)

篠田 啓*



はじめに

1971年にMachemerら¹⁾によって開発された経毛様体扁平部硝子体手術は、長きにわたり3ポートの19~20ゲージ(以下,G)システムにより行われてきた。顕微鏡,周辺機器などの技術開発や病態理解のめざましい発達により,難治性疾患や黄斑疾患などへと適応は広がり,裂孔原性網膜剥離のスタンダード手術の1つとしても用いられるようになった。

しかし硝子体術者は満足せず,より小さい創で

低侵襲の手術という理想を追求し続けた。その結果,白内障手術が切開創の大きな計画的晶体囊外摘出術(ECCE)から小切開自己閉鎖創による超音波白内障手術(PEA)に移行したように,硝子体手術においてもsmall gauge surgeryが広く行われるようになった。de Juanらは1990年に25ゲージ硝子体手術器具のプロトタイプを作製し²⁾,さらに2002年に経結膜的強膜創にカニューラを設置する25G硝子体手術システムを開発した^{3,4)}。

ゲージが小さければ小さいだけ局所での侵襲は小さくなるが,効率は低下する。例えばカッタ

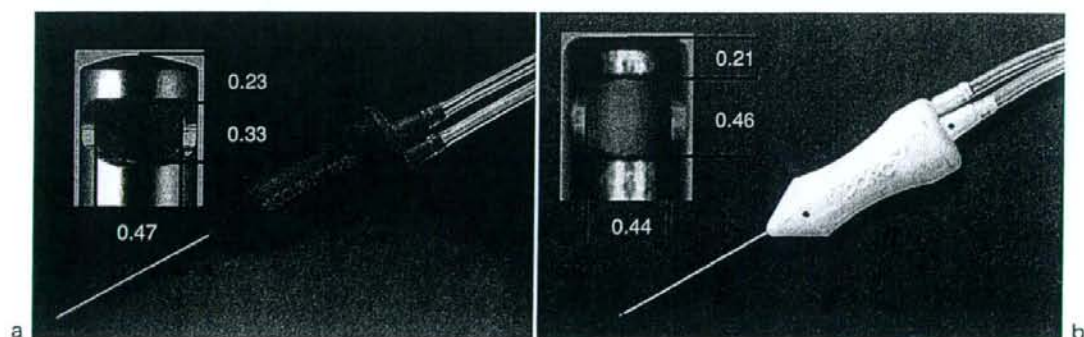


図1 23ゲージ硝子体カッターの外観と各部位のサイズ

a: アルコン社製アキュラス® 23Gプローブ。シャフト長32.0mm, 内径0.503mm, 外径0.610mm。

b: DORC社製第3世代23Gプローブ。シャフト長33.0mm, 内径0.515mm, 外径0.638mm。

吸引口から先端までの距離が短くなっており(アルコン社20Gカッターでは0.43mm),より網膜に近いところで硝子体や増殖膜の処理を行うことができる。数値は実測値と一部文献⁶⁾より引用。

* しのだ・けい 大分大学医学部眼科学教室

別刷請求先: 篠田 啓 〒879-5593 由布市挾間町医大ヶ丘1-1 大分大学医学部眼科学教室

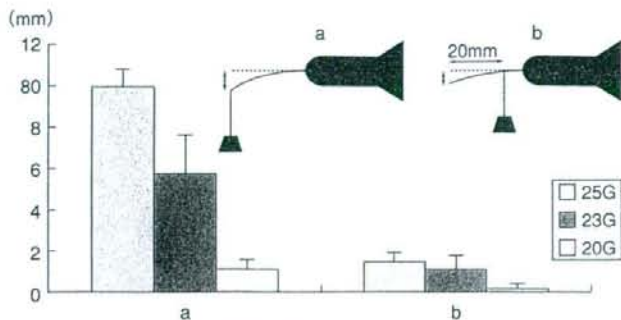


図2 各ゲージサイズの硝子体カッターのシャフトの剛性

50.3 g の重りを吊り下げたときの先端の偏位でしなりの程度を比較した。25 G はアルコン、B & L electric、DORC、Midlabs の 4 種類、23 G はアルコン、DORC の 2 種類、20 G はアルコン、B & L、B & L electric の 3 種類の平均値。a は重りを先端に吊り下げた場合、b は先端から 20 mm の位置に吊り下げた場合で、これは手術時に術者が実際に感じる剛性の指標と考えられる。23 G カッターはアルコン社製では 4.5 mm (a)、0.76 mm (b)、DORC 社製では 7.17 mm (a)、1.69 mm (b) であった。(データは文献⁶⁾より引用)

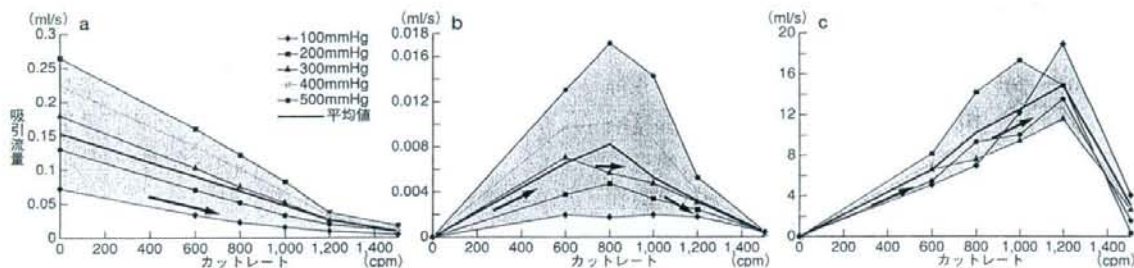


図3 23ゲージ空気駆動式プローブの切除効率

BSS (balanced saline solution) および豚眼から取り出した硝子体を用いて、カッターの吸引圧とカットレートを変化させたときの吸引流量を調べたもの。BSS の場合 (a)、カットレートが上がるほどデューティサイクル (カッターの吸引口が開いている時間の割合) が低下するため吸引流量は低下する。硝子体 (b) および、硝子体+BSS (c) の場合、低カットレートでは一周中に流れが止まったりサージ (急に吸引されること) が生じ、高カットレートでは硝子体をより小さい塊として切り取ることができるため管内閉塞が生じにくくなる。しかし、このカッターの場合 1,200 cpm 以上ではおそらく不十分な開口や低デューティサイクルのため、硝子体の切除吸引率は極端に低下している。(文献¹³⁾図5を改変して引用)

の外径が 20 G の 0.9 mm から 25 G の 0.5 mm になったことで、管壁の剛性を保つため内径はより小さくなる。流体の抵抗は内半径の 4 乗に反比例するため切除効率は悪く手術時間は長くなり、従来のハロゲン光源では十分な照度を得られなくなった。また、眼内器具の先端の剛性低下のため「しなり」が強くなり操作性が悪い、先端の曲がった器具が使用できないなど、20 G システムと比較した場合、使用できる眼内器具が制限された。

この欠点を補い、かつ経結膜無縫合手術を可能とした 23 G システムが 2005 年に Eckardt⁵⁾によ

り開発された。23 G システムはシャフトの剛性が高く (図 1, 2)⁶⁾、吸引力も 20 G カッターとほぼ同等であるというデータ⁶⁾もあり、20 G に近い感覚で手術を行うことができる。以前より硝子体生検や気体網膜復位 (pneumatic retinopexy) を外来手術で行う 1 ポートから 2 ポートでの経結膜無縫合硝子体手術システム (office-based vitrectomy: OVIT) として、23 G のポータブルカッターを用いた方法⁷⁾も報告されており、これを機に近年小切開硝子体手術を行う術者が急速に増えている⁸⁻¹²⁾。

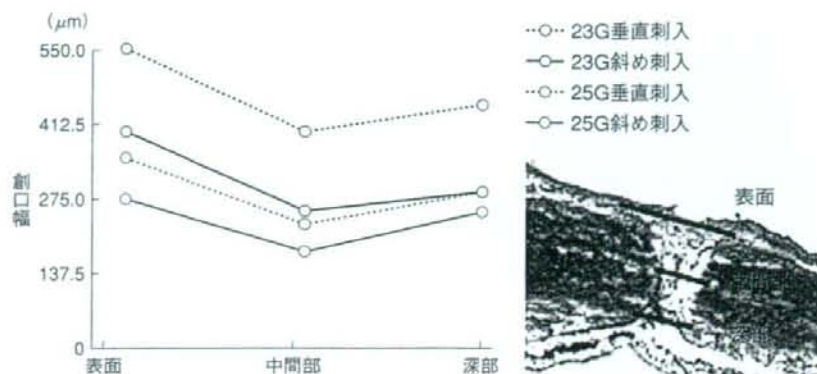


図4 23ゲージおよび25ゲージカニューラシステムによる強膜創の創口幅の比較
ウサギの眼を用いて23Gおよび25G硝子体手術を行い、1週間後の創口の幅を比較した。
破線はトロッカーを垂直刺入、実線は斜め刺入で作製した場合。23Gの斜め刺入、25Gの
斜め刺入、25Gの垂直刺入はほぼ同等であった。(文献²⁰⁾図5を改変して引用)

ここでは、23G硝子体手術の特性およびその長所、短所を確認し、実際の手術手技を解説する。

硝子体切除吸引効率は何によって決まるか

硝子体は98%の液体と、主にコラーゲンとヒアルロン酸という2%の蛋白の混合物である。この点を考慮したカッターの切除効率の検討^{6,13)}で、カッターのゲージサイズと駆動方式によってパフォーマンスが異なることがわかっていく。

硝子体の切除効率はカッターの吸引圧とカットレートにより変化する。カットレートが上昇すると一周期(吸引口の閉鎖、開口、閉鎖)あたりの吸引流量は減るが、一方でより小さい塊として硝子体を切り取ることができるため管内閉塞が生じにくくなる。空気駆動式カッター(pneumatic cutter)の場合はデューティサイクル(duty cycle: カッターの吸引口が開いている時間の割合)も低下する。したがって液体のみの吸引にはカットレートが小さいほど効率はよい(図3)が、一般に硝子体の切除吸引効率はカットレートが大きいほどよい^{13,14)}。

しかし、ある23G空気駆動式カッターでは、1,200 cpmあたりを頂点として、それ以上では不十分な開口や低デューティサイクルのため硝子体の切除吸引効率は極端に低下するという報告¹³⁾も

ある(図3)。またMagalhaesら¹³⁾は高速カメラによる映像の検討で、主に低カットレートで一周期中に流れが止まっている場合や、サージ(急に吸引されること)が生じていることを確認しており、後者は医原性網膜裂孔の危険性に直結するため、適切なカットレートと吸引圧の設定および硝子体切除部位や対象疾患ごとの設定の使い分けが重要となる。さらに、カッターの吸引口の開口部面積や内径(図1)、吸引ラインの性質、また、制御装置(アルコン社 ACCURUS[®]、Bausch & Lomb社 Millennium[™]、ニデック社 CV-24000、DORC社 associate[®] 2500など)およびそのカッターとの組合せなども硝子体切除効率に影響する⁶⁾ため、使用するシステムの特性を理解することは大切であり、また今後もより効率がよくて安全性の高いシステムが追求されるであろう。

強膜創の作製

1. カニューラシステムの特性

1971年のMachemerら¹¹⁾によるVISC(vitreous infusion suction cutter)の報告時、すでにトロッカーの必要性が認識されていた。20Gのカニューラシステム¹⁵⁾は、特に水平剪刀など使用可能な器具の制限などからわが国では好まれず、その使用は垂直剪刀やMPC(membrane peeler cutter)を多用する米国にとどまっていた。メリット

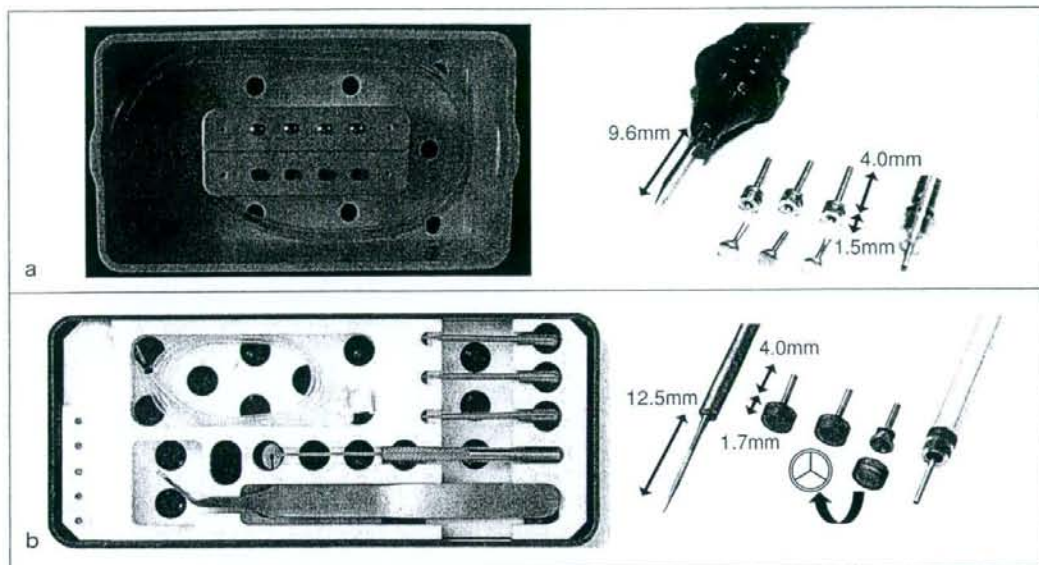


図5 アルコン社 (a) および DORC 社 (b) のカニューラシステム

いずれも金属製であるためか、25 G システムに使われるポリイミド製のものと比較して抵抗が少なく、術中に抜けかかって網膜下灌流になることがあるため注意が必要である。また、25 G システムと比べて flow が多いため、空気置換の際に 20 G システム手術と同様、網膜の乾燥が危惧されている。アルコン社はシングルステップ方式、DORC 社は 2 ステップ方式であるが、米国では DORC 社もシングルステップ方式を発売しており使用者が増えつつある。DORC 社のカニューラはシリコンのキャップがついており、硝子体脱出、眼球虚脱、網膜の乾燥などが生じにくくプラグも不要である。また、インフュージョンチューブの先端のカニューラの長さは 7.4 mm で、強膜に設置したカニューラ（全長 5.82 mm、先端の長さ 4 mm）を通して眼内に入る長さは 5.58 mm となるため、抜けかかったときに網膜下灌流が起きにくい一方、眼球変形の場合は注意が必要である。さらに先端から 1.5 mm のところに緑がついており、抜けにくくなるように設計されている。

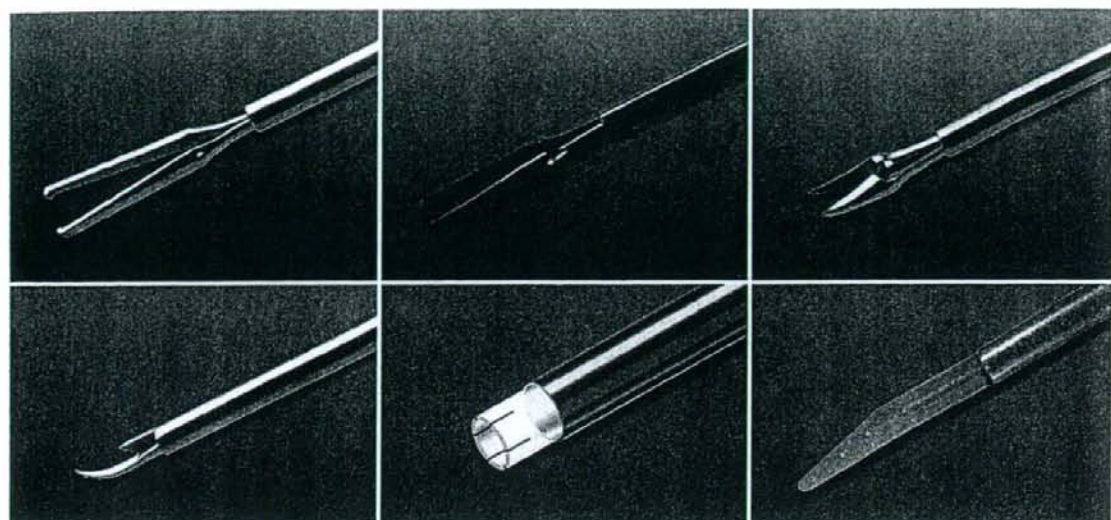
として、① 無縫合による結膜温存とこれによる術後異物感、乱視、炎症の軽減、涙液層への低侵襲や手術時間の短縮、② 種々の器具の挿入箇所の変更が可能であること、などが強調されるが、忘れてはならないのは、③ 器具の出入れに伴う強膜創ないし周辺組織への侵襲の軽減、特に硝子体基底後縁における医原性裂孔のリスク軽減であろう。強膜創に嵌頓させられた硝子体線維による術後医原性裂孔の発生についてはさらに長期経過を待たなくてはならないが、これは主に無縫合とそのため意図的周辺硝子体温存によるものであり、カニューラシステムは強膜創ないし基底後縁傍の組織に低侵襲であると思われる。

他方、カニューラシステムに伴う合併症として術後低眼圧、カニューラ破損、血液凝固塊によるカニューラ内の通過障害、そして高率な術後眼内

炎発生など^{5,14,16~20)}があるが、これらは主に 25 G システムによるものであり、今後 23 G システムにおけるデータが待たれる。これらの合併症を受けて、トロッカー、カニューラの材質や形状、強膜創作製法も次々に開発されている。動物眼で創からの漏出や 1 週間後の創口の大きさを調べた検討²¹⁾では、23 G の斜め刺入、25 G の斜め刺入、25 G の垂直刺入はほぼ同等 (図 4) で、23 G 手術では現在以下に述べるような斜め刺入が主流である²⁰⁾。

2. カニューラの設置

現在 2 通りの方式がある。いずれも強膜創が自己閉鎖しやすいトンネル状となるよう工夫されている。このうち 2) では、操作がやや煩雑であるが、創の形状から 1) に比べ自己閉鎖しやすい傾向がある。



a	b	c
d	e	f
g		

図6 23ゲージ硝子体手術の主な眼内操作器具

a: エッカード氏 ILM 鉗子 (エンドグリップ), b: スペイド氏ピック型 ILM 鉗子, c: マイクロ剪刀 (水平, カーブ), d: マイクロ剪刀 (垂直), e: バックフラッシュニードルプラグアスピレーション, f: ダイヤモンドスイーパー, g: e の全体像。

1) シングルステップ方式 (アルコン社, 図 5a)

結膜を角膜に向かって1~2mmずらし、カニューラを付けたトロッカーを眼球に対して接線方向(約20°)で刺入し、カニューラ先端が強膜に達したら、その後、向きを垂直方向としてカニューラの根元まで刺入する。カニューラを鑷子で把持しながらトロッカーを抜去し、灌流チューブおよびプラグを設置する。トロッカーの方向はベベルダウンにすると創が長くなる。

2) 2ステップ方式 (DORC社, 図 5b)

プレッシャープレート (DORC社) や眼球固定リング (D & K社) を用いて結膜を強膜からずらした状態で眼球を固定する。角度付きの23GのMVRナイフ®で眼球に対して接線方向(約20°)で刺入し強膜トンネルを作製する。この創を見失わないためにもしっかり固定したまま、カニューラをセットしたインサーターを強膜創に挿入し、抜けないように注意しながらカニューラを留置する。DORC社のカニューラはシリコンのキャップがついていてプラグは不要である。

以前はDORC社の23Gカッターの外径は0.60

mmとアルコン社のそれ(0.64mm)より小さかったためトロッカーの内径も狭く、DORC社のEckard 23Gトロッカーシステムにアルコン社の23Gカッターは使用困難であった。現在のトロッカーシステムはDORC社の第3世代の23Gカッター(0.64mm)に合わせてあり、アルコン社の23Gカッターも使用可能である。手術の際には事前にカッターや鉗子などとトロッカーのサイズ合わせをしておくといよい。

硝子体切除

1. コアビトレクトミー

わが国での一般的な設定値はカットレート2,000~2,500 cpm (cut per minute), 吸引圧400~600 mmHg, 灌流圧30~35 mmHg, またはカットレート1,500~2,000 cpm, 吸引圧350~400 mmHg, 灌流圧40~45 mmHgのようである。カッターの開口部の大きさの違いや駆動方式などの特性を考慮して適宜設定する。

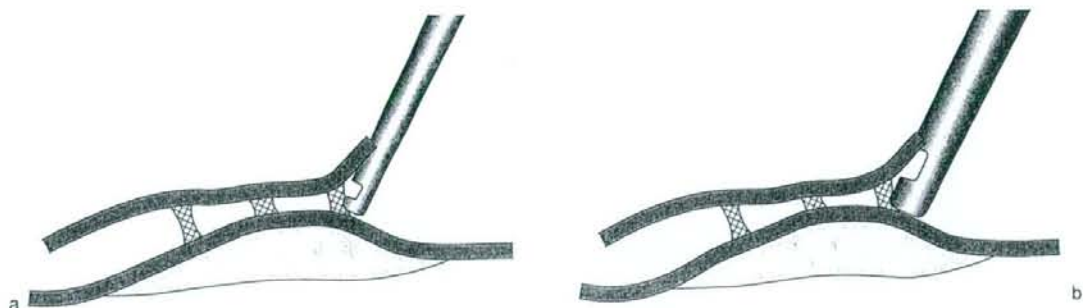


図7 20ゲージと23ゲージカッターの比較

23 G カッター (a) は 20 G カッター (b) に比べシャフトの外径が約 2/3 と細く、また吸引口から先端までの距離も約 1/2 と短くなっている (図 1 参照) ため、増殖膜と網膜の間で、より網膜に近い部位での操作が可能となった。

2. 周辺部切除

黄斑疾患では徹底した周辺部硝子体郭清は行われていないが、今後長期安全性の検討が必要であろう。他方、糖尿病網膜症などでは周辺部硝子体切除が必要であるが、結膜嚢の狭い症例では強膜圧迫が困難である。灌流圧を 15 mmHg くらいに下げると圧迫が容易になるが、それでも困難な場合は結膜切開を行うとよい。また、広角観察システムを用いると軽度の強膜圧迫で周辺切除が行える。

3. 増殖膜処理

角度のある水平剪刀、スパチュラ、デラミネーションナイフなど先端の曲がった器具が使えないものの、25 G システムに比べ使用可能な器具も多く剛性も高い (図 6)。また、現在のカッターは 25 G カッターのように開口部から先端部までの距離が短くなっており、カッターによる膜処理が行える (図 1, 7)。さらに、シャンデリア照明を用いた双手法や、アバスチン® の前投与によって新生血管の活動性を下げるなどの工夫も有用である。

カニューラの抜去

カニューラを抜去する際は、片方にプラグを挿入したうえでカッターやイルミネーションプローブなどで内腔を塞いだ状態で抜去すると、過度の硝子体嵌頓の予防になる。ゆっくりと抜去した後、創口から眼内液が漏れないように鉗子や綿棒で押

さえる、あるいは擦る。創閉鎖には強膜トンネルの弁による効果と残存硝子体の嵌頓が関与する。また強膜創の作製方法、術中の強膜創へのストレスも影響する。眼内液の漏出が止まらないようなら結膜上ないしは結膜切開をして強膜創を 8-0 vicryl® などで縫合する。

おわりに

小切開硝子体手術はまだ歴史が浅いが、使用器具の脆弱性や制限の問題はほぼクリアされ、また 20 G システムとは異なった術式であるといった術式の理解も広まり急速に主流になりつつある。ディスポ器具の問題でコストが割高になってしまいう欠点もあるが、今後の改善が期待される。さらに、ケナコルト® による硝子体可視化、広角観察システム、種々の照明装置やシャンデリアシステム、内視鏡なども近年めざましく進歩しており、これらの特性を理解し、疾患に、症例に、また術者に合った手術システムを採用することにより飛躍的に 23 G 硝子体手術の質を高めることができる。

文献

- 1) Machemer R, Buettner H, Norton EW et al: Vitrectomy: a pars plana approach. *Trans Am Acad Ophthalmol Otolaryngol* 75: 813-820, 1971
- 2) de Juan E Jr, Hickingbotham D: Refinements in microinstrumentation for vitreous surgery. *Am J Ophthalmol* 109: 218-220, 1990
- 3) Fujii GY, De Juan E Jr, Humayun MS et al: A new

- 25-gauge instrument system for transconjunctival sutureless vitrectomy surgery. *Ophthalmology* **109** : 1807-1812, 2002
- 4) Fujii GY, De Juan E Jr, Humayun MS et al : Initial experience using the transconjunctival sutureless vitrectomy system for vitreoretinal surgery. *Ophthalmology* **109** : 1814-1820, 2002
 - 5) Eckardt C : Transconjunctival sutureless 23-gauge vitrectomy. *Retina* **25** : 208-211, 2005
 - 6) Hubschman JP, Gupta A, Bourla DH et al : 20-, 23-, and 25-gauge vitreous cutters : performance and characteristics evaluation. *Retina* **28** : 249-257, 2008
 - 7) Hilton GF, Josephberg R, Halperin LS et al : Office-based sutureless transconjunctival pars plana vitrectomy. *Retina* **22** : 725-732, 2002
 - 8) 浅見 哲・寺崎浩子 : 小切開硝子体手術システム. *臨眼* **61** : 494-499, 2007
 - 9) 北岡 隆 : 23 ゲージ硝子体手術. *眼科手術* **20** : 21-26, 2007
 - 10) 佐藤達彦・日下俊次 : 硝子体切除. 門之園一明・井上 真・林 篤志 (編) : 今日から実践 小切開硝子体手術. 76-79, メジカルビュー社, 東京, 2008
 - 11) 木村英也 : 小切開硝子体手術. 松村美代 (監修) : 図説硝子体手術. 47-60, 銀海舎, 東京, 2007
 - 12) 野田 徹・寺内直毅 : 硝子体手術の道具立て. 田野保雄 (編) : みんなの硝子体手術. *眼科プラクティス*, 53-61, 文光堂, 東京, 2007
 - 13) Magalhaes O Jr, Chong L, DeBoer C et al : Vitreous dynamics : vitreous flow analysis in 20-, 23-, and 25-gauge cutters. *Retina* **28** : 236-241, 2008
 - 14) 井上 真・篠田 啓 : 25 ゲージ硝子体手術のまとめ. *眼科手術* **18** : 373-377, 2005
 - 15) Machemer R, Hickingbotham D : The three-port microannular system for closed vitrectomy. *Am J Ophthalmol* **100** : 590-592, 1985
 - 16) Shinoda H, Nakajima T, Shinoda K et al : Jamming of 25-gauge instruments in the cannula during vitrectomy for vitreous haemorrhage. *Acta Ophthalmol (Oxf)* 2007 Oct 1 : [Epub ahead of print]
 - 17) Acar N, Kapran Z, Unver YB et al : Early post-operative hypotony after 25-gauge sutureless vitrectomy with straight incisions. *Retina* **28** : 545-552, 2008
 - 18) Kunitomo DY, Kaiser RS ; Wills Eye Retina Service : Incidence of endophthalmitis after 20- and 25-gauge vitrectomy. *Ophthalmology* **114** : 2133-2137, 2007
 - 19) Tewari A, Shah GK, Fang A : Visual outcomes with 23-gauge transconjunctival sutureless vitrectomy. *Retina* **28** : 258-262, 2008
 - 20) Fine HF, Iranmanesh R, Iturralde D et al : Outcomes of 77 consecutive cases of 23-gauge transconjunctival vitrectomy surgery for posterior segment disease. *Ophthalmology* **114** : 1197-1200, 2007
 - 21) Singh RP, Bando H, Brasil OF et al : Evaluation of wound closure using different incision techniques with 23-gauge and 25-gauge microincision vitrectomy systems. *Retina* **28** : 242-248, 2008

組織病理カラーアトラス

坂本穆彦・北川昌伸・菅野 純

●B5 頁408 2008年
 定価10,500円(本体10,000円+税5%)
 [ISBN978-4-260-00507-4]

医学生・研修医にとって必要となる組織病理写真を1冊にまとめている。医学生にはCBT、国家試験に向けて知識の整理に、初期研修医には研修義務化で必須となったCPCに大変役立つ。カラーアトラスとして写真を大きくレイアウト。解説文はポイントを絞った箇条書を主体とし、枝葉を落として必要最小限にまとめている。シエマも適宜取り入れ、組織写真のイメージ(顔つき)が一目でわかるように工夫されている。

Distribution of Retinal Responses Evoked by Transscleral Electrical Stimulation Detected by Intrinsic Signal Imaging in Macaque Monkeys

Koichi Inomata,^{1,2,3} Kazushige Tsunoda,^{2,3} Gen Hanazono,^{2,3} Yoko Kazato,^{1,2,3} Kei Shinoda,^{2,4} Mitsuko Yuzawa,¹ Manabu Tanifuji,³ and Yozo Miyake^{2,5}

PURPOSE. The distribution of the electrical current over the retina when electrical pulses are delivered transsclerally has not been clearly determined objectively and quantitatively in humans. The purpose of this study was to determine the pattern of electrically evoked neural activity in the monkey retina by using intrinsic signal imaging.

METHODS. The intrinsic signals of monkey retinas were recorded as changes in the reflectance of infrared light from the retina after transscleral electrical stimulation by DTI electrodes. The effects of changing the stimulus parameters (e.g., intensity, duration, and frequency) of the electrical current, were investigated.

RESULTS. Electrical stimulation evoked a uniform change in the reflectivity across the posterior pole of the retina; that is, the intrinsic signals changed uniformly. A peak of the intrinsic signal was not observed at the fovea. The threshold of the intrinsic signal was not significantly different for the macula, perimacula, and optic disc, and the threshold did not differ under dark- and light-adapted conditions. The strength of the signals increased with longer stimulus durations, and the maximum signals were obtained when the stimulus frequency was between 15 and 20 Hz.

CONCLUSIONS. Intrinsic signals of the monkey retina evoked by transscleral electrical stimulation are elicited uniformly across the posterior pole of the fundus and most likely arise from activation of the inner or middle layers of the retina. These functional measurements could serve as a diagnostic tool for mapping the inner retinal activity by which the site of a lesion can be noninvasively imaged. (*Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2008;49:2193-2200) DOI:10.1167/iov.07-0727

Electrical stimulation of the retina excites the neural pathway and evokes light sensations, called electrical phosphores, and electrically evoked responses (EERs) from the occipital lobe.¹⁻³ Miyake et al.⁴⁻⁹ have applied this technique

for clinical diagnosis and have explored ways to evaluate the function of the inner retina of patients with total retinal detachment, night blindness, central artery occlusion, and optic nerve diseases objectively. With the increasing interest of retinal prosthesis,¹⁰⁻¹² the effects of electrical stimulation of the retina have drawn increasing attention because understanding the neuronal properties of the retina after electrical stimulation is essential for the development of retinal prosthesis^{13,14} and determining residual retinal function in patients with inherited and acquired retinal degeneration should be known before a retinal prosthesis is implanted.^{15,16} More recently, based on the results of several investigations on the neuroprotective effect of electrical stimulation,^{12,17,18} electrical stimulation of the retina has been used to treat optic nerve diseases, such as nonarteritic ischemic optic neuropathy, traumatic optic neuropathy,¹⁹ and longstanding retinal artery occlusion.²⁰

Distribution of the electrical current across the retina, however, has not been definitively determined. Although electrical phosphores are perceived homogeneously and continuously over the visual field when the retina is stimulated with a DTI electrode,¹⁶ there is no way to evaluate the current distribution over the retina objectively quantitatively and noninvasively in humans. Electroretinographic techniques cannot be used to evaluate the retinal activity evoked by electrical currents because of the large electrical artifact from the stimulus.

Intrinsic signal imaging is a well-established imaging technique recently applied to translate neural activities elicited by photic or electrical pulses into the minimal visible changes of the appearance of the retina.²¹⁻²³ This has been used to assess the cone- and rod-induced responses in the retinas of macaque monkeys²⁴ and humans.^{25,27} Recently, we reported that retinal intrinsic signals are composed of several components with different properties, and some of the components are strongly correlated with the neural activity of the inner retina.²⁸

The purpose of this study was to determine the distribution of the electrical currents across the posterior retina after an electrical pulse. To accomplish this, we measured the changes in the retinal intrinsic signals evoked by transscleral electrical stimulation. A DTI electrode was used to deliver the electrical pulses, and different recording conditions, such as light- and dark-adapted states, along with different electrical current parameters, such as intensity, duration, and frequency were studied. Results indicated that the electrical stimuli elicited responses uniformly across the posterior pole of the ocular fundus and activated mainly the inner or middle layers of the retina.

METHODS

The principles of measuring intrinsic signals have been described in detail.^{25,28} The experiments were performed on two rhesus monkeys (*Macaca mulatta*) under general anesthesia. After intramuscular injection of a mixture of atropine sulfate (0.08 mg/kg), droperidol (0.25 mg/kg), and ketamine (5 mg/kg), the monkeys were paralyzed with

From the ¹Division of Ophthalmology, Department of Visual Science, Nihon University School of Medicine, Tokyo, Japan; ²Laboratory of Visual Physiology, National Institute of Sensory Organs, Tokyo, Japan; ³Laboratory for Integrative Neural Systems, Brain Science Institute RIKEN, Saitama, Japan; ⁴Department of Ophthalmology, Oita University Faculty of Medicine, Oita, Japan; and ⁵Aichi Shukuroku University, Aichi, Japan.

Supported by Research on Sensory and Communicative Disorders from the Ministry of Health, Labor, and Welfare, Japan.

Submitted for publication June 15, 2007; revised September 6, 2007; accepted March 3, 2008.

Disclosure: K. Inomata, None; K. Tsunoda, None; G. Hanazono, None; Y. Kazato, None; K. Shinoda, None; M. Yuzawa, None; M. Tanifuji, None; Y. Miyake, None.

The publication costs of this article were defrayed in part by page charge payment. This article must therefore be marked "advertisement" in accordance with 18 U.S.C. §1754 solely to indicate this fact.

Corresponding author: Kazushige Tsunoda, Laboratory of Visual Physiology, National Institute of Sensory Organs, Tokyo, Japan; 2-5-1 Higashigaoka, Meguroku, Tokyo 1528902, Japan; tsunodakazushige@kankakuki.go.jp

vecuronium bromide (0.15 mg/kg per hour) and were artificially ventilated with a mixture of 70% N₂O, 30% O₂, and up to 1.5% isoflurane. Electrocardiograms, expired CO₂, and rectal temperatures were monitored throughout the experiments. Before the recordings, one pupil was fully dilated with topical tropicamide (0.5%) and phenylephrine hydrochloride (0.5%). A hard contact lens was placed on the eye to prevent the cornea from drying.

The experimental protocol was approved by the Experimental Animal Committee of the Riken Institute, and all experimental procedures conformed to the guidelines of the Riken Institute and the ARVO Statement for the Use of Animals in Ophthalmic and Vision Research.

Intrinsic Signal Imaging

A digital fundus camera system (NM-1000; Nidek, Aichi, Japan) was modified to record the light reflectance changes of the macaque retina over 45° of the posterior pole. The fundus reflectance was continuously monitored with light from a halogen lamp bulb filtered through an infrared interference filter (840–900 nm). The camera was focused on the macular vessels, and the images were recorded with a charge-coupled device (CCD) camera (PX-30BC; Primetech Engineering, Tokyo, Japan). The images were digitized with an IBM-compatible computer equipped with a video frame-grabber board (Corona I; Matrox, Quebec, Canada; gray level resolution, 10 bits; spatial resolution, 640 × 480; temporal resolution, 1/30 second; Fig. 1A). The respirator was stopped during the recordings to reduce the respiration-induced motion artifacts.

For recordings in the light-adapted condition, half an 80-mm diameter white polyethylene ball was placed between the fundus camera and the eye. The ball was illuminated by two halogen lamps through fiber optics so that the luminance in the center was 30 cd/m². The ball was removed a few seconds before data acquisition.

Electrical Stimulation of Retina

DTL electrodes were used to deliver the electrical pulses. The DTL electrode was selected for the measurements of intrinsic signals because the noise of the intrinsic signal is much lower with a DTL

electrode than with a contact lens electrode such as the Burian-Allen electrode and because electrical phosphenes were perceived to be more homogeneous and continuous with a DTL electrode than with a contact lens electrode.¹⁶

The fibers of the DTL electrode were placed on the lower bulbar conjunctiva 5 mm from the corneal limbus. The conjunctiva was covered with 3% hyaluronic acid and 4% chondroitin sulfate (Viscoat; Alcon Japan, Tokyo, Japan), and the reference electrode was placed on the ipsilateral wrist (Fig. 1A).

Biphasic electrical pulses were used for all experiments (Fig. 1A, inset). The stimulus consisted of a positive current for x msec followed by a negative current for $3x$ msec and then a rest period for $5x$ msec. In most of the experiments with a pulse frequency of 20 Hz, x was set to 10, but in the experiment in which the pulse frequency was changed, x varied from 40 (5 Hz) to 2 (100 Hz) to keep the total current constant.

Stimuli were delivered 0.5 second after the initiation of data acquisition for 1 second, except in the experiment in which stimulus duration was changed from 0.5 second to 7 seconds. Pulse duration and frequency were controlled by a function generator (Multifunction Synthesizer WF 19443B; NF Corporation, Yokohama, Japan). Timing of the data acquisition and stimulus delivery were under computer control.

To compare the responses evoked by light flashes, white light stimuli were obtained from a xenon strobe (duration, 1 msec) embedded in the fundus camera. The light stimulus was given to the entire posterior pole of the ocular fundus, 0.5 second after the initiation of data acquisition. Flashes were delivered either as flickering flashes (20 Hz, 1 second, Fig. 2A) or as a single flash (Fig. 3). Flash intensity measured at the cornea was 6.07 cd · s/m² for the flickering flashes, and 140 cd · s/m² for a single flash (measured at 50.2 mm from the object lens by a photoradiometer; IL-1700; International Light Technologies Inc., Peabody, MA).

Data Analysis

After electrical or light stimulus, the light reflectance from the ocular fundus decreased and the fundus image became darker. The intrinsic

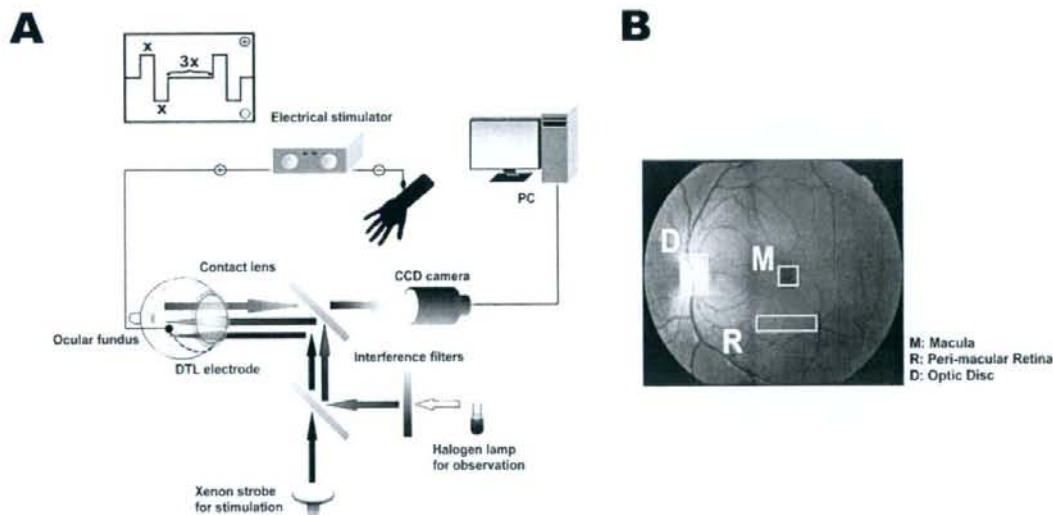


FIGURE 1. Schematic drawing of the experimental setup, pattern of electrical pulses, and fundus photograph. (A) Ocular fundus was illuminated by the light from a halogen lamp filtered through an infrared interference filter and monitored by a CCD camera during the recording trial. Stimulus was given by a xenon flash through the objective lens of a fundus camera or by electrical current through a DTL electrode placed on the conjunctiva. *Inset:* biphasic pulse current with a duration of x is followed by a resting period as long as $3x$. As the frequency is changed from 5 to 100 Hz, x is changed from 40 to 2 msec, respectively. (B) Fundus photograph of normal retina showing the locations to be analyzed.

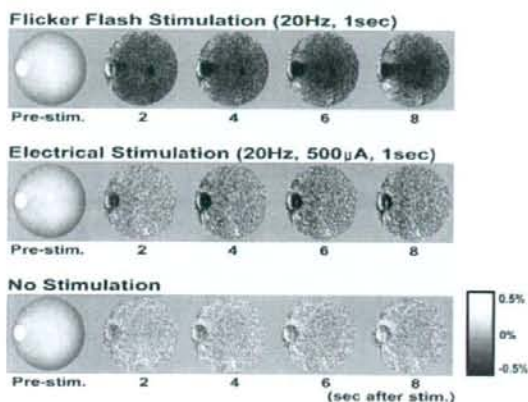
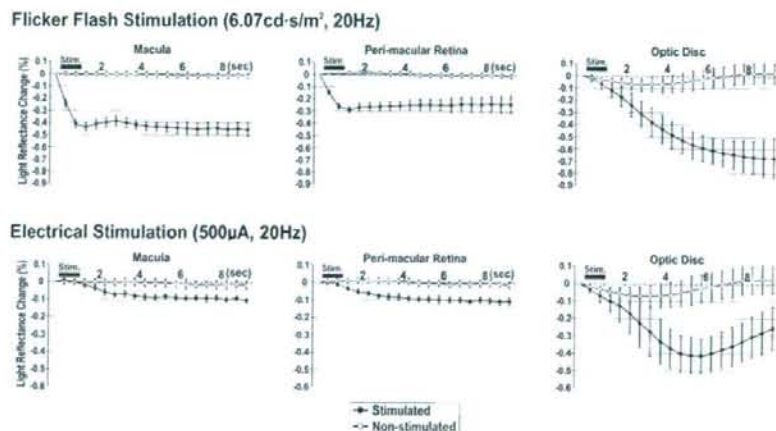
A

FIGURE 2. Time courses of flash-evoked and electrically evoked intrinsic signals (**A**) Monochromatic infrared images of the ocular fundus showing the light reflectance changes during 10 seconds with flicker flash stimulation (*top*) or electrical stimulation (*middle*) or without stimulation (*bottom*). Images on the left are fundus images taken before the stimulation. Images on the right are the differential images showing the light reflectance changes after stimulation. Thirty consecutive video frames collected during 1 second were averaged for one poststimulus fundus image. Darkened regions indicate a decrease of light reflectance after the light stimulus. The data of three consecutive trials are averaged. (**B**) Plot of time courses of the light reflectance changes, evoked by flash (*top*) and electrical (*bottom*) stimulation at three different regions in a normal eye. The period of stimulus delivery (1 second) is indicated by *thick bars*. The time after the initiation of stimulus is shown on the abscissa. Data of 10 consecutive trials were averaged.

B

signals were measured as the stimulus-evoked changes in light reflectance. The amplitude was calculated as poststimulus grayscale values/prestimulus (0.5-second period) values pixel by pixel. This ratio was rescaled to 256 levels of grayscale resolution to show the stimulus-induced reflectance changes (Fig. 2A).

Each recording trial consisted of 500 video frames collected at 30 frames per second for a total recording time of 10 seconds. The grayscale values of 15 video frames collected in 0.5 second were averaged for individual data points to determine the time course of the flash-induced reflectance changes (Fig. 2B).

In our previous studies, we showed that the response properties of the intrinsic signals evoked by a brief light flash were distinctive for different regions of the ocular fundus because they arise from different neuronal and vascular components of the eye though the precise cellular mechanisms of signal production have not been determined.^{25,26} To compare the electrically evoked signals with the light-evoked signals, three retinal regions were examined: the macula (30 × 30 pixels, covering 3.5° of the center), the perimacular region between the macula and the inferior-temporal artery (95 × 25 pixels), and the optic disc (40 × 60 pixels; Fig. 1B). To plot the time courses of reflectance changes, grayscale values within each region were averaged (Fig. 2B).

RESULTS

After flickering light or electrical stimuli, the light reflectance of the posterior retina and the optic disc decreased and the image of the ocular fundus became darker (Fig. 2A, top and middle). The time courses of the intrinsic signals, however, were different for these two stimuli. The time courses of the signals in three regions evoked by light flashes (20 Hz, 1 second, 6.07 cd · s/m²) and electrical pulses (20 Hz, 1 second, 500 µA) under dark-adapted conditions are shown in Figure 2B. With flickering light, the reflectance changes in the macula and the perimacular retina were more rapid than at the optic disc, with the signal reaching its negative peak within 1.5 seconds after the flash. With electrical stimulation, on the other hand, light reflectance changes in the macula and the perimacular retina were as slow as those at the optic disc. Although the onset of light reflectance changes in the perimacular retina slightly preceded that in the optic disc, the signals in three regions reached their negative peaks 5 to 6 seconds after the stimulus. This trend in the signal time course was the same regardless of the current intensity, for a range of 100 to 1000 µA (data not shown).

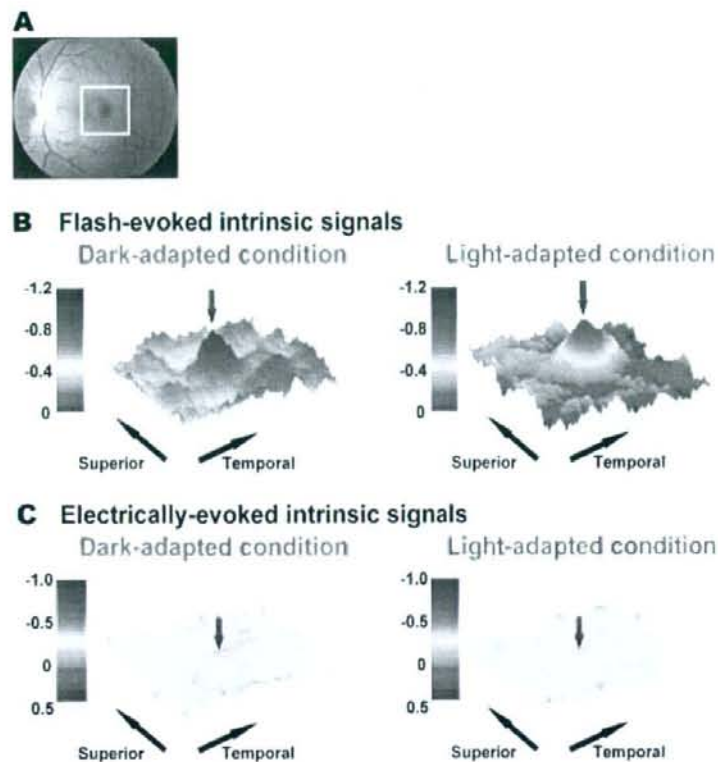


FIGURE 3. Topographic maps of the intrinsic signals elicited by flash-evoked and electrically evoked stimuli in the posterior retina. Pseudocolor topographic maps of light reflectance changes after a single flash (**B**; flash intensity, $140 \text{ cd} \cdot \text{s}/\text{m}^2$; duration, 1 msec) or electrical stimulus (**C**; current, $500 \mu\text{A}$; pulse frequency 20 Hz; stimulus duration, 1 second) in the posterior pole of retina, under dark (*left*)- or light (*right*)-adapted conditions. Twenty consecutive trials were averaged to construct the topographic map. The location of the fovea is indicated by red arrows. The region of interest is shown by a white rectangle in (**A**). Note that negative values of light reflectance changes are plotted to indicate the strength of intrinsic signals at each locus.

Spatial Distribution of Intrinsic Signals

Distribution of the intrinsic signals evoked by a flashed light stimulus represents the responses of cone and rod photoreceptors.²⁵ After 30 minutes of dark adaptation, a topographic map of the intrinsic signal elicited by a flashed light stimulus had a steep peak at the fovea, and the perimacular region was moderately activated (Fig. 3B, left). The strong response at the fovea reflects cone-induced activities, and the response at the perimacular region reflects both cone- and rod-induced activities.²⁵ In the light-adapted condition, the topography of the response had a steep peak at the fovea, but the response in the perimacular region was strongly reduced because of suppression of rod function (Fig. 3B, right).

The distribution of the electrically evoked signals, on the other hand, did not have a foveal peak in dark- or light-adapted conditions (Fig. 3C). In addition, the perimacular response under dark-adapted conditions did not differ significantly from that under light-adapted conditions. The intrinsic signals evoked by electrical stimulation were roughly homogeneous in the posterior pole, and the spatial distribution did not reflect the anatomic distribution of cone and rod photoreceptors as it did with light stimulation.

Effect of Changes in Stimulus Current

The effect of currents ranging from 0 to $1000 \mu\text{A}$ on the intrinsic signals was determined under dark- and light-adapted conditions (pulse frequency, 20 Hz; stimulus duration, 1 second; pulse duration, 10 ms; Fig. 4). The peak light reflectance value obtained during the 10-second recording was used for the signal amplitude for each current (same as in Figs. 5 and 6), and the results of three trials were averaged. Results measured

at the macula, perimacular retina, and optic disc are shown for two monkeys (M1 and M2). Response properties appear to be approximately the same in each region under both dark- and light-adapted conditions. Change in reflectance as a function of the electrical current was sigmoidal; weak responses were recorded at low currents from 100 to $400 \mu\text{A}$, stronger and faster rising signals were recorded above $400 \mu\text{A}$, and maximum signals were recorded above $600 \mu\text{A}$. The threshold of the electrically evoked intrinsic signals might have been lower than $100 \mu\text{A}$ in each of the three regions, but it was technically difficult to determine the peak value of the signal when the absolute light reflectance changes became smaller than 0.05%. A small difference of signal amplitudes between dark- and light-adapted conditions in the perimacular area can be noted (Fig. 4, middle graphs); however, this difference was negligible in amplitude and threshold when compared with that in the flash-evoked response, in which twofold to fivefold differences in signal amplitude and a 3-log difference in the threshold of flash intensity were observed between dark- and light-adapted conditions.²⁴

Effect of Stimulus Duration

We measured the intrinsic signals evoked by different stimulus durations in the dark-adapted condition. Stimulus durations varied from 0.5, 1, 3, 5, and 7 seconds, pulse frequency was 20 Hz, and stimulus current was $500 \mu\text{A}$ for a pulse duration of 10 msec (Fig. 5). Results of four trials were averaged in the two monkeys (M1 and M2). Response properties seem to be almost the same in each region; the intrinsic signals increased with longer stimulus durations.