低体温の蝸牛複合電位 (CAP) 順応現象におよぼす影響

越智健太郎, 木下 裕継, 大橋 徹
聖マリアンナ医科大学耳鼻咽喉科学教室

要旨：蝸牛複合電位 (compound action potential : CAP) の順応現象を、モルモットにおいて正常状態での起こり方、さらに異常時のモデルとして低体温負荷時の CAP 順応現象について検討を加えた。CAP 順応現象の検討は、クリック間隔 (Δt) が 2, 4, 8 ms の 10 個のクリックからなるクリック・トレイン刺激により行われた。 Δt 、音圧の CAP 順応現象におよぼす影響に関する検討では、 Δt が大きくなると CAP 順応現象が起こりにくくなり、音圧が大きくなるにしたがって CAP 順応現象が起こりにくくなる傾向を認めた。低体温時に認めた CAP 振幅の有意な減少は、神経放電の desynchronization に基づくものと考えられた。また、閾値に変化をおこすことなく Δt が 4 ms および 8 ms 時に順応現象が起こりにくくなる傾向を認めたが、CAP の順応現象は、ある種の内耳障害の検出に役立つ可能性のあるものと考えられた。

—キーワード—

低体温, 蝸電図, 蝸牛複合電位 (CAP), 順応現象

緒 言

蝸電図はメニエール病における SP (summing potential) の診断的有用性に代表されるように、蝸牛の病態把握において優れた検査法と考えられている。しかしながら、蝸牛複合電位 (compound action potential : CAP) の順応現象に関しては、Yoshie and Ohashi¹⁾ が報告して以来種々の検討がなされているが、臨床応用はあまり行われていない。これは次にあげるような問題があるためと考えられる。反応が不安定で正常範囲を決定することが困難なこと、記録時間延長の問題、音圧の影響が一定でないこと、耳小骨筋反射の影響などである。今回はこれらの問題に対し、動物において正常状態での CAP 順応現象の起こり方、さらに異常時のモデルとして同一の動物で低体温時の CAP 順応現象について検討を加えた。CAP 順応現象の検討は、クリック間隔 (Δt) が 2, 4, 8 ms の 10 個のクリックからなるクリック・トレイン刺激により行った。

方 法

[実験動物]

実験動物として、健康なハートレー系の雄モルモット 9 匹を用いた。そのうち反応が継続して記録できた 6 匹を対象とした。体重は、340~540g (432 ± 74 g) であった。

[蝸電図記録]

25mg/kg のソディウム・ペントバルビタール (ネプタール_{TM}) を腹腔内に投与し、局所は塩酸リドカイン・エピネフリン (エピレナミン含有キシロカイン注射液 0.5%_{TM}) にて麻酔し、気管切開を行い、筋弛緩をえるために塩化スキサメトニウム (レラキシ_{TM}) を 50mg/kg 筋肉内注射した。レスピレーターによる人工呼吸管理下に耳介後部にて乳突骨胞を露出開放し、手術用顕微鏡を用い正円窓を直視した。正円窓膜上に銀ボール電極を基準電極としておき、不関電極および接地電極には、針電極を頸筋と後耳介筋にそれぞれ刺入し、シールドを施された防音室内で蝸電図記録を行った。

クリック：4 kHz に中心周波数を持つクリックを interstimulus interval (ISI) を 128ms として与え、閾値をチェックした。

クリック・トレイン：電気刺激装置 (ダイヤモンド

図1 クリック・トレイン Paradigm
 Δt は 2, 4, 8 ms とし, トレイン間隔は 500ms とした。

カルシシステム, DPS-1200D) によりクリック・トレイン刺激を行った。クリック間隔 (Δt) は, 2, 4, 8 ms とし, 10個のクリックを用い, トレイン間隔は 500 ms となるようにした。音響刺激の paradigm を図 1 に示した。

すべての音響刺激は被検耳外耳道入口部から 40cm 離れた位置に設置したスピーカー (JBL-2450H) から日常外来で人間に対して行っているのと同じく, 自由音場にて与えた。刺激強度は dB peak equivalent SPL (dB pe SPL) で表現した。

反応波形は日本光電社製解析装置 (QC-111J) にて加算平均した。加算平均回数はクリック, クリック・トレイン刺激ともに 50 回とした。刺激音場は外耳道入口部に設置したコンデンサーマイクロフォン (リオン社製 UC-30) から出力し, オシロスコープ (IWATSU CODS-8605) と精密騒音計 (リオン社製 NA-41) で波形モニターと音圧測定を行った。生体増幅器のフィルター帯域は, 0.08Hz~10kHz に設定した。組織学的検討は行わなかった。

[低体温負荷]

体温は, thermostatically controlled heating unit (Bio Research BWT-100) を用い直腸温が 38°C になるように保った。低体温は thermostat を 34°C に設定し, また必要に応じ氷嚢を用いて直腸温が 34°C となるようにした。

[記録解析]

CAP 振幅の測定は, 基線の決定が困難な場合があったため, 図 2 の実際の波形 (正常体温, Δt : 4 ms, 音圧: 100dB) に示したように CAP の立ち上がりからとして行った。

今回の実験では, 蝸牛血流量 (今回は未検討) など一つのシリーズとして記録した。すなわち正常体温 (38°C) 下で一つのシリーズを記録し, その後に低体温が安定した後に, 低体温下の同一のシリーズを記録した。統計学的検討には, Power Macintosh 用 StatView

図2 正常体温における Δt : 4 ms, 音圧: 100dB pe SPL のクリック・トレインに対する反応
 A_1, A_2, A_3 は, 実際の CAP 振幅の測定法を示している。

J4.5を用い, $P < 0.05$ を有意な変化あるいは差とした。主として, Wilcoxon signed rank test を用いた。

結 果

[閾値変化]

今回の 6 匹の動物においては, 低体温時におけるクリック刺激による閾値の変化は 0~10dB であった。

[正常体温における Δt の CAP 順応現象におよぼす影響]

図 2 には, 正常体温時の Δt : 4 ms, 音圧: 100dB のクリック・トレインに対する実際の CAP 順応現象の過程が示してある。図 3 には音圧: 90dB のクリック・トレインに対する CAP の N1 振幅を, 絶対値ではなく相対値 (normalized amplitude) で示してある。すなわち, クリック・トレイン内の第 1 クリックに対する CAP の N1 振幅 (A_1) を 1 とし, 以下第 2~第 10 クリックに対する CAP の N1 振幅 (A_2-A_{10}) は相対値 (${}_nA_2 = A_2/A_1, {}_nA_3 = A_3/A_1, \dots, {}_nA_{10} = A_{10}/A_1$) を示している。3 種類の Δt に分けて平均値と標準誤差が示してあるが, Δt が大きくなるにつれて CAP の減衰は小さくなることが確認できる。音圧: 90dB 時の 3 つの Δt (2, 4, 8 ms) の CAP の N1 振幅 (A_2-A_{10}) の相対値 (${}_nA_2-{}_nA_{10}$) の平均値と標準偏差はそれぞれ, 0.287 ± 0.080 (Δt : 2 ms, $n=54$), 0.409 ± 0.127 (Δt : 4 ms, $n=54$), 0.475 ± 0.101 (Δt : 8 ms, $n=36$) であり, これらの差を Wilcoxon signed rank test にて統計学的に検討すると全て有意 ($p < 0.0001$) であった。それぞれの n が異なるのは測定不能例があったためである。

音圧が 80dB および 100dB 時も同様の傾向を認め, 全て統計学的に有意 (音圧: 80dB 時の Δt が 2 ms と 8 ms: $p < 0.001$, 他は全て $p < 0.0001$) であった。

図3 正常体温における Δt のクリック・トレインに対する反応におよぼす影響
音圧90dB時のそれぞれのCAP振幅の相対値 ($nA_1, nA_2, \dots, nA_{10}$) が, 3つの Δt に分けて示されている。

図4 正常体温における音圧のクリック・トレインに対する反応におよぼす影響
 Δt が4 ms時のそれぞれのCAP振幅の相対値 ($nA_1, nA_2, \dots, nA_{10}$) が, 3つの音圧に分けて示されている。

[正常体温における刺激音圧(80, 90, 100dB)のCAP順応現象におよぼす影響]

図4には Δt : 4 ms時のCAPのN1振幅の相対値(normalized amplitude)が図3同様に示してある。3種類の音圧に分けて示したが、音圧が大きくなるにつれてCAPの減衰は小さくなっている。 Δt が4 ms時の80, 90, 100dBの3種類の音圧のCAPのN1振幅の相対値 ($nA_2 - nA_{10}$) の平均値と標準偏差はそれぞれ, 0.344 ± 0.106 (音圧: 80dB, $n=54$), 0.409 ± 0.127 (音圧: 90dB, $n=54$), 0.534 ± 0.109 (音圧: 100dB, $n=54$) であり, これらの差は Wilcoxon signed rank test にて統計学的に検討すると3つの音圧全てにおいて有意 ($p < 0.0001$) であった。 Δt が2 msおよび8 ms時

図5 正常体温と低体温時のクリック・トレインに対する反応の比較
 Δt が4 ms, 音圧90dB時のそれぞれのCAP振幅 ($A_1, A_2, \dots, A_{10}$) が, 正常体温時と低体温時に分けて示されている。縦軸には対数目盛が用いられている。

も同様の傾向を認め, 統計学的にも全て有意 (Δt が2 ms時の音圧80dBと90dB: $p < 0.01$, Δt が8 ms時の音圧80dBと90dB: $p < 0.05$, Δt が8 ms時の音圧90dBと100dB: $p < 0.001$, 他は全て $p < 0.0001$) であった。

[低体温のCAP振幅におよぼす影響]

Δt : 4 ms, 音圧: 90dBの正常時と低体温時の順応現象の過程を図5に示してあるが, 低体温状態では, 正常体温時と比較してCAPのN1振幅は減少していた。 Δt : 4 ms, 音圧: 90dBの正常体温時と低体温時のCAPのN1振幅 ($A_1 - A_{10}$) の平均値はそれぞれ, $159 \pm 100 \mu V$ ($n=60$), $134 \pm 88 \mu V$ ($n=60$) であり, この差は有意 ($p < 0.01$) であった。3種類の刺激音圧と3種類の Δt についてそれぞれ検討すると, 全ての組み合わせにおいて低体温状態では正常体温時と比較しCAPのN1振幅は減少例が多かった。これを統計学的に検討すると Δt が2 msおよび4 ms時には有意であった (Δt : 2 ms—音圧80dBおよび90dB: $p < 0.001$, 100dB: $p < 0.0001$; Δt : 4 ms—音圧80dB: $p < 0.05$, 90dB: $p < 0.01$, 100dB: $p < 0.0001$)。しかし Δt が8 ms時には有意ではなかった (音圧80dBおよび90dB: $p=0.33$, 100dB: $p=0.91$)。

[低体温のCAP順応現象におよぼす影響]

図6には, Δt : 2 ms, 音圧: 90dBのCAPのN1振幅の相対値(normalized amplitude)が示してある。低体温時には nA_2 の減衰が大きく, 平均値は nA_4 まで低体温時の方が小さく, その後は逆転している。3つの音圧について Wilcoxon signed rank test にて統計

図6 Δt が2 ms時の正常体温と低体温時のクリック・トレインに対する反応の比較
音圧90dB時のそれぞれのCAP振幅の相対値(nA_1 , nA_2 , …, nA_{10})が、正常体温時と低体温時に分けて示されている。

図8 Δt が8 ms時の正常体温と低体温時のクリック・トレインに対する反応の比較
音圧90dB時のそれぞれのCAP振幅の相対値(nA_1 , nA_2 , …, nA_{10})が、正常体温時と低体温時に分けて示されている。

図7 Δt が4 ms時の正常体温と低体温時のクリック・トレインに対する反応の比較
音圧90dB時のそれぞれのCAP振幅の相対値(nA_1 , nA_2 , …, nA_{10})が、正常体温時と低体温時に分けて示されている。

学的に検討すると音圧が80dBおよび100dB時には低体温時に有意(80dB: $p < 0.05$, 100dB: $p < 0.001$)にCAPの減衰が大きくなっていたが、90dB時には有意差を認めなかった($p = 0.44$)。

図7には、 Δt : 4 ms, 音圧: 90dBのCAPのN1振幅の相対値(normalized amplitude)が示してある。平均値は、 nA_2 では正常時と低体温時はほぼ同等であるが、その後は低体温時にはCAPの減衰が小さくなっている。統計学的に検討すると音圧が90dB時には有意($p < 0.0001$)に低体温時にCAPの減衰が小さくなっていたが、80dBおよび100dB時には正常時との有意差は認めなかった(80dB: $p = 0.25$, 100dB: $p = 0.11$)。

図8には、 Δt : 8 ms, 音圧: 90dBのCAPのN1振幅の相対値(normalized amplitude)が示してある。低体温時にCAPの減衰が小さくなっており、統計学的に有意($p < 0.001$)であった。音圧が80dBおよび100dB時においても同様に低体温時に有意(80dB: $p < 0.0001$, 100dB: $p < 0.001$)にCAPの減衰が小さくなっていた。

考 察

Eggermont²⁾は、cochlear adaptationに関して遠心系の関与などが報告されていたが³⁾、末梢のものであることが判明したとしている。今回の検討で、順応現象におよぼすクリック間隔(Δt)、音圧の影響を確認することができた。音圧に関しては、60dBで最大の順応現象が起こるとされているが^{4,5)}、我々の検討は60dB以上の刺激強度であり音圧を増加させるとCAPの順応現象が起こりにくくなると考えられるが、実際の結果もそれに合致するものであった。60dBという音圧に関しては、Eggermont and Spoor⁴⁾は、CAPの反応に関与する神経線維をその神経線維のmodal latencyで2つのpopulationsに分けて検討している。60~70dBではどちらのpopulationもsynchronizationの低下を来たすためとしている。さらにSpoorら⁵⁾は、60dBを境に順応現象のパターンに変化を認めることは、短音刺激時のCAPのピークの2つの成分と入出力曲線の2つの成分に依存しているとしており、順応現象はおそらくcochlear hair cell-first auditory neuron junctionで起こっているとしている。シナプス異常、騒音下のよう

な spontaneous desynchronization の因子がある場合、順応現象は消失してしまうとしている。Charlet de Sauvage and Aran⁶⁾ は動物実験において、60dB で最大の順応現象を認めなかったが、その理由として個々の動物の閾値差をあげている。すなわち、閾値が異なるために潜時を用い、2 ms の時に最大の順応現象を認めたとしている。我々の検討でも音圧による差異を認めており、順応現象の検討には閾値、潜時などを詳細に検討する必要があると考えられた。

低体温下では、CAP 振幅の減少を認めたが、神経発火の desynchronization にもとづいていると考えられた。 Δt が 8 ms 時には正常体温時との有意差を認めなかったが、これは低体温による CAP 振幅の減少に順応現象が起こりにくくなることが加わったためと考えられた。Coats⁷⁾ は低体温は音圧の減少と同様の機序であるとしているが、Eggermont²⁾ は、低体温は synaptic delay を引き起こし、それぞれの神経線維の発火の desynchronization を、ISI を低下させるのと同様に起こすとしている。Henry ら⁸⁾ は、forward-masked CAP の tuning curve と simultaneously-masked CAP の tuning curve との差が低体温時には減少する傾向を認め、Eggermont の報告²⁾ のように ISI を短縮させるのと同様であると結論している。

今回の検討では、特に低体温時に Δt を 2 ms とするとクリック・トレイン内の 2 番目のクリック以降の反応が記録できない例がいくつかあり、音圧が 80 および 100dB 時に Δt が 8 ms の時と反対に低体温時に順応現象が起こりやすくなる傾向を認めた。このことは聴覚障害例には Δt が 2 ms は短すぎ、適当でない場合があることを示唆していると考えられた。 Δt が 4 ms の時には音圧が 90dB 時においてのみ低体温時に順応現象が起こりにくくなる傾向を認めたが、音圧が 80dB および 100dB 時には有意差を認めなかった。このことは検出数が少ないこともあるが、4 ms でも短いという可能性を示唆しているのかもしれない。

今回の検討では、 Δt が 4 ms および 8 ms 時に、低体温時に順応現象が起こりにくい傾向を認めたが、この変化は小さなものであった。我々の検討では閾値変化が 0 ~ 10dB であったが、低体温下では閾値が低下することが考えられ、また潜時も延長するため、今回の検討した 80 ~ 100dB という音圧レベルでは、音圧が減少すると順応現象がより起こりやすくなると考えられるため、順応現象が起こりにくくなるという変化が小さくなってしまった可能性もある。低体温による変化が、

順応現象がより起こりやすくなるという場合は、閾値の変化などを考慮する必要があるが、順応現象がより起こりにくくなるという場合は何らかの変化が起こったと考えても適当であろう。

以上検討したように、音圧による変化などの問題はあがあるが蝸牛の機能、特にシナプスの異常を識別できる検査として CAP の順応現象は有用であると考えられた。我々は、クリックに対する閾値に変化を生じていない早期の実験的内リンパ水腫モルモットにおいて CAP の順応現象に変化を認めたが⁹⁾、これは CAP の順応現象を調べることで早期の内リンパ水腫を確認する可能性を示しているとも考えられる。

結 語

Δt 、音圧の CAP 順応現象におよぼす影響に関する検討では、 Δt が大きくなると CAP 順応現象が起こりにくくなる傾向を認め、音圧が大きくなるにしたがって CAP 順応現象が起こりにくくなる傾向を認めた。低体温時に認めた CAP 振幅の有意な減少は、神経放電の desynchronization に基づくものと推測された。また、 Δt が 4 ms および 8 ms 時に閾値に変化をおこすことなく低体温時に順応現象が起こりにくい傾向を認めたが、CAP の順応現象は、ある種の内耳障害の検出に役立つ可能性があるものと考えられた。

Δt が 2 ms のように短い場合は、聴覚障害例には適当でない場合があると考えられた。

附記

本研究は文部省科学研究費補助金（課題番号：0877 1444）により行われた。本研究の一部は、第23回 International Audiology Conference (Bari, 1996)、第41回 日本聴覚医学会総会（京都、1996）において発表した。

Effects of Hypothermia on CAP Adaptation

Kentaro Ochi, Hirotsugu Kinoshita, Toru Ohashi

Department of Otolaryngology, St. Marianna University School of Medicine

The effect of inter-click interval (Δt) and stimulus intensity on compound action potential (CAP) adaptation was explored in six guinea pigs. In addition, the effect of hypothermia on CAP adaptation was investigated in the same animals. CAP was

elicited from the exposed round window through a retroauricular incision using a silver ball electrode. After obtaining the baseline data, hypothermia around 34°C was obtained. Click was used to track the threshold shifts. All animals showed almost no threshold shift throughout the experiment. Click train consisted of 10 clicks in three different Δt s and intensities was delivered through the loud speaker placed in front of animals ear. The bigger Δt or the higher intensity, the smaller CAP adaptation occurred in normal temperature. Hypothermia induced decrease in CAP amplitude and altered adaptation pattern to click trains. Decreased CAP amplitude was induced by desynchronization. It is concluded from our results that hypothermia affects CAP adaptation process without changing threshold. It is proposed that CAP adaptation would be useful for detection of some inner ear dysfunction.

参考文献

- 1) Yoshie N and Ohashi T : Abnormal adaptation of human cochlear nerve action potential responses : Clinical observation by non-surgical recording. *Rev Laryngol (Bord)* **92** : 673-690, 1971
- 2) Eggermont JJ : The temperature dependency of cochlear adaptation and masking in the guinea pig. *Audiology* **13** : 147-161, 1974
- 3) Leibbrandt CC : The significance of the olivocochlear bundle for the adaptation mechanism of the inner ear. *Acta Otolaryngol (Stockh)* **59** : 124-132, 1965
- 4) Eggermont JJ, Spoor A : Cochlear adaptation in guinea pigs — A quantitative description. *Audiology* **12** : 193-220, 1973
- 5) Spoor A, Eggermont JJ, Odenthal DW : Comparison of human and animal data concerning adaptation and masking of eighth nerve compound action potential, in Ruben RJ, Elberling C, Salomon G (eds) *Electrocochleography*. University Park Press, Baltimore, London, Tokyo, 1976, pp183-198
- 6) Charlet de Sauvage R, Aran J-M : Clinical value of adaptation measurements in Ruben RJ, Elberling C, Salomon G (eds) *Electrocochleography*. University Park Press, Baltimore, London, Tokyo, 1976, pp169-182
- 7) Coats AC : Depression of the click action potential by attenuation, cooling, and masking. *Acta Otolaryngol (Stockh) Supple* **283** : 1-19, 1971
- 8) Henry KR, Price JM, Sweet RJ : Hypothermia differentially affects tuning curves generated by forward and by simultaneous masking. *Acta Otolaryngol (Stockh)* **111** : 842-847, 1991
- 9) 木下裕継, 越智健太郎, 大橋 徹・他 : 実験的リンパ水腫動物の蝸牛順応現象. *Audiology Japan* **39** : 493-494, 1996

(原稿受付 平成 9.6.2)