UNSPECIFIC EVOKED POTENTIAL OF WAKING RABBIT BRAIN

By
KINCHIRO TAGUCHI

*From the Department of Otolaryngology, Faculty of medicine
Shinshu University, Matsumoto (Director: Prof. T. Suzuki)*

The refractory periods of waking rabbit brain to auditory and electrical stimulation were examined by means of the superimposing technique and the summation method in the average response computer. The refractory periods were determined by the appearance of the unspecific evoked responses to second stimuli. This experiment was designed on the table of the orthogonal arrays of three factors ($H_{8.27}$).

Following results were obtained:

1) The individuality of rabbits and the strength of the first stimuli had no influence upon the

refractory periods, while the second stimuli produced a significant powerful effect.

2) There were no mutual interaction between the three factors (the individuality of the rabbits, the strength of the first stimuli and that of the second stimuli).

3) The cross-modality interaction between the click and electric shock showed that the evoked response is essentially the same as the secondary discharge of animal in sleep or the V-potential in waking human brain.

覚醒時家兎における非特異性誘発電位*

信州大学医学部耳鼻咽喉科学教室 (主任: 鈴木篤郎教授)

田 口 喜 一 郎
た ぐ ち き い ち ろ う

緒 言

感覚刺激に対する大脳誘発電位は古来幾多の研究があるが、これは 1) 覚醒時反応と 2) 睡眠時反応とに大別される。前者は更に a) primary response, b) association area response c) vertex-potential, 後者は a) primary response, b) secondary discharge, c) K-complex 等に分けることができる。

鈴木¹⁾, 菊地²⁾³⁾⁴⁾は覚醒時家兎の大脳誘発電位を観察した。本反応はその大脳皮質における広範な分布から非特異性の反応であろうと予想され、人間の V-potential に相当するものであろうと推測されたが、この点に関する十分な検討はまだなされていない。

最近著者はこの点を解明するために、重ね合わせ法による刺激間隔を目標とした実験を施行し、併せて加算法

によりその結果を確かめ得たので、ここにその概要を発表する。

実験方法

1) 実験動物

多数の白色成熟家兎中より、free field で 60dbSL の click (持続時間 0.5msec) を与えた時及び坐骨神経に 4.0V の電気刺激 (0.5msec) を加えた時、脳波上に誘発電位の見られるもの 3 頭を at random に選んだ。これ等の家兎は脳波誘導のため、頭頂部硬膜上 (両側眼窩後縁を結ぶ線上で矢状面との交叉点) に活性電極を固定してから 1 カ月以上経過したもので、項部に不関電極を刺入した。又電気刺激を導入するため、左側坐骨神経に同心状針状電極を刺入固定した。

2) 実験装置

実験装置の block-diagram は第 1 図の如くである。即ち電氣的に遮蔽された防音室の中に、実験動物と sp-

* 聴器機能検査法研究第 59 報

第1図 実験装置の block-diagram

speaker のみを入れ、脳波記録装置、audiometer 並びに検者は隣室に位置した。

a. 刺激装置

刺激は前記 block-diagram の電子管刺激装置（日本光電製 MSE 20）によつた。これより発生した刺激を1つは speaker を通し持続 0.5msec 程度の pulse 性 click に変え、もう1つは右坐骨神経に刺入した同心型針状双極電極を通して電氣的 shock を与えた。

b. 脳波記録装置

三栄測器の MPA-203 型万能記録装置を使用し、その一部は重ね合わせ法のできるよう改変した。増幅器は $50\mu\text{V}$ の入力に対し、ペン先が 15mm の振幅を有するように調節した。記録用紙の進行速度は毎秒 2.5cm であつた。

c. 重ね合わせ装置

インク書き oscillograph の描写板の片端に小孔を穿ち、その直下に phototransistor (sony 2 T-102) を取り付け、描写板小孔直上には光源として小型電球を設置し、その光が小孔を経て transistor に投ぜられるようにする。phototransistor は真空管による遅延動作 relay-switch 装置を駆動し、その瞬間から任意の時間々隔 (0.1~10 秒) をもつて2つの pulse が別々の電子管刺激装置を働かせ、所定の click 又は電氣 shock を発生する。

記録用紙を約 250cm に切断し、電球の直下を通る位置に約 30cm 間隔に 20mm×10mm の短形の孔をあける。その用紙を oscillograph の廻転盤に取り付け、両端を貼り合わせて環状とする。

今 oscillograph を作動させると、用紙が環状のため、

描記される脳波々形は何回でも同じコースを通り、click 並びに電氣 shock は何時も記録用紙の同じ位置で与えられる。本実験では原則として10回重ね合わせて行った。

3) 刺激の与え方

a. click 刺激

60, 80, 100dbSL, 0.5msec の click を直交配列表の教えるところにより、夫々2つずつ組合わせ、各組合わせについて0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.5, 3.0, 5.0 秒の刺激間隔にて重ね合わせ法により記録し、第1刺激、第2刺激共に反応の見られる時間をもつて求める不応期とした。

b. 電氣 shock

刺激用同心双極電極で、4, 5.3, 6.6V, 0.5msec の3水準の刺激を click 刺激と同様の方法で与えて、不応期を測定した。

c. click と電氣 shock との交互作用

前記 a, b の実験により十分に反応が見られ、且つ click と電氣 shock の両者における不応期がほぼ等しいと考えられる click 刺激 80db, 電氣 shock 5.3V を用い、i) 電氣 shock に click を先行させた場合、ii) click に電氣 shock を先行させた場合の2種の実験を3頭の家兎に施行し、同様に不応期を目標として、click と電氣 shock との交互作用の有無を検討した。

4) なお click に関しては重ね合わせ法と全く同じ実験を三栄測器製作の Average Response Computer (ARC) により、30回加算を行い、第1反応に対する第2反応の（振幅の）回復に要する刺激間隔を求めた。

実験成績

3 因子（動物、第1刺激、第2刺激）、3水準（3匹、前記 click の3段階の強さ、同じく電氣 shock の3段階の強さ）、実験回数 27 回の直交配列表 ($H_{3 \times 3 \times 3}$) (第1表) を用いて、各組合わせに関する実験を行い、第2刺激に対する反応が現われるに要する刺激間隔（不応期）を求めた。なお1日に行う実験回数は9回で、従つて実験に要した日数は重ね合わせ法6日（click, 電氣 shock 各3日ずつ）、ARC による click の実験3日計9日であつた。各実験日における9回の実験の順序はくじ引きで決めた。

その実験成績は第2表の如くである。本表より次のことが分る（第2図）。

表1表 H_{3.17} の表

実験日	No.	家 兎	第1刺激	第2刺激
第1日	1	A ₁	B ₁	C ₁
	2	A ₁	B ₂	C ₂
	3	A ₁	B ₃	C ₃
	4	A ₂	B ₁	C ₂
	5	A ₂	B ₂	C ₃
	6	A ₂	B ₃	C ₁
	7	A ₃	B ₁	C ₃
	8	A ₃	B ₂	C ₁
	9	A ₃	B ₃	C ₂
第2日	10	A ₁	B ₃	C ₁
	11	A ₁	B ₁	C ₂
	12	A ₁	B ₂	C ₃
	13	A ₂	B ₃	C ₂
	14	A ₂	B ₁	C ₃
	15	A ₂	B ₂	C ₁
	16	A ₃	B ₃	C ₃
	17	A ₃	B ₁	C ₁
	18	A ₃	B ₂	C ₂
第3日	19	A ₁	B ₂	C ₁
	20	A ₁	B ₃	C ₂
	21	A ₁	B ₁	C ₃
	22	A ₂	B ₂	C ₂
	23	A ₂	B ₃	C ₃
	24	A ₂	B ₁	C ₁
	25	A ₃	B ₂	C ₃
	26	A ₃	B ₃	C ₁
	27	A ₃	B ₁	C ₂

A₁, A₂, A₃: 3匹の家兎B₁} click 60db,
C₁} 電気 shock 4.0VB₂} click 80db
C₂} 電気 shock 5.3VB₃} click 100db
C₃} 電気 shock 6.6V

1) click-click 刺激の場合

この場合、重ね合わせ法でも（第3表）、加算法でも（第5表）共に次のことが云える。

a. 動物の個体差はあるが、特性値に影響を及ぼさない。

b. 第1 click 刺激も特性値に影響を及ぼさない。

c. 第2 click 刺激のみ特性値に影響を及ぼし、刺激の引さが大になると不応期は短くなる。

第2表 第2刺激に対する反応出現に必要な刺激間隔（秒）

	重ね合わせ法		加 算 法	
	click	電気 shock	click	
			出現時間	回復時間
1	5.0	5.0	3.0	(5.0)
2	3.0	3.0	1.5	(3.0)
3	0.9	0.9	1.5	(5.0)
4	0.9	0.5	0.9	(1.5)
5	1.5	0.9	0.5	(1.5)
6	3.0	1.5	0.9	(3.0)
7	0.5	0.5	0.5	(0.9)
8	5.0	1.5	0.7	(1.5)
9	1.5	3.0	0.9	(3.0)
10	1.5	3.0	0.7	(3.0)
11	1.5	1.5	0.7	(1.5)
12	0.9	0.9	0.3	(0.5)
13	3.0	0.9	0.7	(0.7)
14	1.5	0.3	0.3	(0.5)
15	5.0	1.5	0.7	(3.0)
16	0.9	0.5	0.5	(0.7)
17	0.9	1.5	0.9	(0.9)
18	0.7	0.5	0.7	(1.5)
19	3.0	3.0	3.0	(5.0)
20	3.0	3.0	0.3	(0.3)
21	1.5	0.9	0.3	(1.5)
22	1.5	1.5	1.5	(3.0)
23	3.0	1.5	1.5	(3.0)
24	3.0	5.0	3.0	(3.0)
25	1.5	0.7	0.5	(0.5)
26	1.5	1.5	3.0	(5.0)
27	1.5	0.9	1.5	(1.5)

出現時間：第2刺激による反応の出現に要する刺激間隔

回復時間：第2刺激による反応がこれと同じ強さの第1刺激による反応の大きさに達するに要する刺激間隔

d. 因子間交互作用はあると云えない。

2) 電気 shock-電気 shock の場合

この場合、重ね合わせ法のみ行つたが、click-clickの場合と全く同様なことが云える（第4表）。

a. 動物の個体差はあるが、特性値に影響を及ぼさない。

b. 第1電気 shock も特性値に影響を及ぼさない。

第2図 観 察 例

1) 音響刺激

組合わせ 第2日目
家兎: A₂
第1刺激: 60db
第2刺激: 100db

2) 電気刺激

組合わせ 第1日目
家兎: A₃
第1刺激: 5.3V
第2刺激: 4.0V

3) 音響刺激-電気刺激

組合わせ 家兎: A₁
第1刺激: 80db
第2刺激: 100db

4) ARC による観察例

組合わせ 30回加算
家兎: A₁
第1刺激: 60db
第2刺激: 80db

c. 第2電気 shock のみ特性値に影響を及ぼし、刺激の強さが大になると不応期は短くなる。

d. 因子間交互作用はあると云えない。

3) click-電気 shock 交互作用

重ね合わせ法による不応期は第6表の如くである。この表中の値は各3回の実験中2回以上で示された値であり、統計的に検討すると、click-電気 shock の場合と電気 shock-click の場合とでは、求められた刺激間隔に有意の差が見られないことが分る。又同種刺激、同一条件下で行った実験値とも有意の差が見られないことか

第3表 重ね合わせ法による測定結果判定 (1)

A: 家兎 B: 第1刺激 C: 第2刺激

因子	F ₀	判定
A	1.47	$F_{0A} < F_{dfe}^{dfA} = 3.49$
B	0.66	$F_{0B} < F_{dfe}^{dfB} = 3.49$
C	4.99	$F_{0C} \geq F_{dfe}^{dfC} = 3.49$ (有意)
A × B	1.82	$F_{0A \times B} > F_{dfe}^{dfA \times B} = 3.84$
A × C	2.91	$F_{0A \times C} < F_{dfe}^{dfA \times C} = 3.84$
B × C	2.72	$F_{0B \times C} > F_{dfe}^{dfB \times C} = 3.84$

第4表 重ね合わせ法による測定結果判定 (2)

A: 家兎 B: 第1刺激 C: 第2刺激

因子	F ₀	判定
A	3.25	$F_{0A} < F_{dfe}^{dfA} = 3.49$
B	0.22	$F_{0B} < F_{dfe}^{dfB} = 3.49$
C	7.06	$F_{0C} > F_{dfe}^{dfC} = 3.49$ (有意)
A × B	0.40	$F_{0A \times B} < F_{dfe}^{dfA \times B} = 3.84$
A × C	1.15	$F_{0A \times C} < F_{dfe}^{dfA \times C} = 3.84$
B × C	2.06	$F_{0B \times C} < F_{dfe}^{dfB \times C} = 3.84$

第5表 ARC による測定結果判定

A: 家兎 B: 第1刺激 C: 第2刺激

() 内は相対不応期

因子	F ₀ (F' ₀)	判定
A	0.18(1.43)	$F_{0A}(F'_{0A}) < F_{dfe}^{dfA} = F'_{dfe}^{dfA} = 3.49$
B	0.13(0.89)	$F_{0B}(F'_{0B}) < F_{dfe}^{dfB} = F'_{dfe}^{dfB} = 3.49$
C	4.23(5.26)	$F_{0C}(F'_{0C}) > F_{dfe}^{dfC} = F'_{dfe}^{dfC} = 3.49$ (有意)
A × B	0.79(0.63)	$F_{0A \times B}(F'_{0A \times B}) < F_{dfe}^{dfA \times B} = F'_{dfe}^{dfA \times B} = 3.84$
A × C	0.33(0.73)	$F_{0A \times C}(F'_{0A \times C}) < F_{dfe}^{dfA \times C} = F'_{dfe}^{dfA \times C} = 3.84$
B × C	0.22(1.09)	$F_{0B \times C}(F'_{0B \times C}) < F_{dfe}^{dfB \times C} = F'_{dfe}^{dfB \times C} = 3.84$

第6表 click-電気 shock 交互作用

単位 秒

家 兎	click-電気 shock	電気 shock-click
A ₁	3.0	1.5
A ₂	0.9	1.5
A ₃	0.9	1.5

ら、相互作用による反応は click 又は電気 shock 各単独の場合と同じ態度をとると云えよう。

考 按

誘発電位を可視的なものにするためにとられる方法には種々の方法があるが、著者の採用した重ね合わせ法と加算法はその代表的なものであろう。重ね合わせ法は Dawson⁶⁾ により開発され、各種の誘発電位の確認に使用された。これは刺激点を基準として幾つかの反応波形を重ね合わせれば、潜伏時間を等しくする共通の反応のみが著明に認められるようになると云う現象を応用している。これに対し、加算法は刺激時点を起点として幾つかの波形を重ね合わせると、一定の潜伏時間をもつ誘発電位は加算され、次第に著明になるが、自発波は互いに相殺されてしまうと云う原理によるもので、Dawson⁶⁾ が最初に発表しているが、その後 electronics の発展と共に実用価値を認められるに到つたものである。著者の今回使用したものは三栄測器製作の average 型 computer であり、1つの誘発電位を連続的な形で捕えるこ

とができる。

本実験の目標として覚醒時大脳誘発電位については、既に鈴木¹⁾、菊地²⁾³⁾⁴⁾の詳細な実験があり、聴野に局在するいわゆる primary response とは全く異なる二次的反應であることは間違いないが、電位が比較的大きく捕え易い点から、他覚的聴力測定への応用の可能性が示唆されている。

著者の目標とした誘発電位殊に電気 shock によるものは、Forbes and Morison⁸⁾の記載した secondary discharge とは極めて密接な関連を有するものと思われる。後者は絶対不応期 1/3 秒、相対不応期 1 秒以上で自発波の影響を大いに受け易く、大脳皮質に広範に分布し、1 側の坐骨神経の刺激に対して両側半球で殆んど同じ潜伏時間と持続時間をもつて現われるもので、著者のものと極めて似ている。しかし、secondary discharge は pentobarbital 又は avertin による深い麻酔段階において現われるものであるのに対し、著者の対象は覚醒時のものである。

本誘発電位は人間の覚醒時と比較した場合、P. Davis⁹⁾が最初に記載した V-potential と種々の点で共通点を見出す。即ち 1) 種々の感覚刺激(聴覚、視覚及び somatic の刺激)によつて誘発され、2) 頭蓋全体に広範に分布するが、特に頭頂あるいはその附近で最大であり、3) 一定の潜伏時間を有するため加算、重ね合わせ等の操作が可能であり、4) 被検者の精神状態によつて左右され、又反復刺激によつて小さくなる傾向がある等の V-potential の性質のあるものは本誘発電位にも認められるものである。但し 1) の聴覚以外の刺激によつても誘発されると云う点は未だ証明されていない。本実験の目的とするところはこの点ではないが、聴覚及び電気刺激によつて誘発される電位が同質的なもので互いに干渉し合うか否かと云う点にあつた。

かかる実験を行うのに、慢然とした方法では実験回数が多く手際よく結論が得られないので、最近品質管理面でよく使われるようになった直交表による実験を試みた。この方法によれば実験回数を減らすことができるだけでなく、要因と水準の選び方によつて、各要因の主効果と、各主要因間の交互作用を容易に知り得るのである。殊に主観の入らない他覚的要素の強い動物実験には適切と思われる。

さて実験成績を見ると、音刺激又は電気刺激各単独の場合、いずれも第 2 刺激のみが不応期に影響を及ぼし、因子間交互作用は見られないと云うことになっている。

この結論より 1) 動物の個体差がさ程大きくないと云う点と 2) 第 1 刺激が不応期に関係しないと云う点に疑問が起る。動物の個体差に関しては、予め被検動物を実験に使用する刺激を用いて、一定の条件に適うものを選択したために、有意の差を示さなかつたものと思われる。又第 1 刺激に関しては、各水準間の差が小さいことが特性値に影響を示さなかつた 1 つの原因であると考えられる。この点を更に確めるために ARC を使用して、第 2 刺激に対する反応の出現と回復を目標として刺激間隔を測定したが、重ね合わせ法の場合と全く同じ成績に終ることとなつた。

不応期に関しては、家兎では菊地²⁾によると、第 2 音刺激による誘発電位の発現率は刺激間隔が 2.0 秒になると、1.0 秒以下の時に比して極度に上昇すると云われ、鈴木¹⁾は 3 秒以上では第 1 音刺激による発現率に比し著変はないと述べている。

著者の実験では使用した全刺激間隔即ち 0.1~5.0 秒に亘り、この間隔は絶対不応期から相対不応期の間隔を示すものと思われるが、この変動が主として第 2 刺激の大きさによるものであることは前記実験成績より明らかである。

secondary discharge については、Forbes and Morison⁸⁾は猫で第 2 刺激で fullsize の放電を見るには 1 秒以上の休憩を必要とするとし、Forbes et al.¹⁰⁾は同じく猫で少くとも 0.2 秒の刺激間隔がないと第 2 刺激に対する反応が見られないとしている。

V-potential に関しては、H. Davis and Yoshie¹¹⁾は対になつた pips を使つた実験で、完全な回復(相対不応期)には約 4.5 秒を要するとし、浅輪¹²⁾は純音を用いて刺激間隔を漸次長くして行くと、7 秒迄は誘発電位の出現率が急速に上昇するが、それから 15 秒位迄はやや緩慢となり、15 秒以上は刺激間隔を延ばしても余りよくならないとしている。Perl et al.¹³⁾は click 及び純音を用いた実験で、刺激間隔が 10 秒又はそれ以上でしかも刺激が不規則に与えられる時誘発反応は最もよく現われるとしている。

人間の V-potential の data を直ちに家兎に比較できないのは当然であるが、V-potential の潜伏時間(Gastaut¹⁴⁾ 65±20msec, Bancaud et al.¹⁵⁾ 50~100 msec) が本反応の潜伏時間(鈴木¹⁾によれば 16~25 msec) のものが多く、平均 23.6msec) より長い故その不応期も家兎より長いと考えれば、そこに本質的に同質のものが、例えば求心性神経路の impulse 伝導速度と

伝達距離,あるいはその間の synapse 数等から時間的ずれを生じているのであると理解できないこともなからう。

最後に音響刺激 (click) と電気刺激 (shock) を組合わせた実験で,両刺激が同じ modality の刺激と同様に作用することを示す data が得られた点は注目値する。Allison¹⁶⁾ は人の V-potential で click と電気 shock の cross-modality interaction を認めてはいるが,conditioning click は conditioning shock に比較して test response を減少させる力が半分位であるとし,V-potential は部分的に非特異的なものであるに過ぎないとしている。この点人間の V-potential に相当することが予想される家兎覚醒時誘発電位に関しても,更に検討されねばならないであろう。

結 語

1) 音響刺激 (click) と電気刺激 (shock) を用いて,刺激間隔と覚醒時成熟家兎における誘発電位の発現との関係を,自動重ね合わせ装置及び ARC により直交表を用いた実験で観察した。

2) 誘発電位は頭頂部の穿頭により作製した小孔より挿入した銀線より導き,不関電極は項部に置いた。

3) 3頭の白色成熟家兎に与えられた音響刺激は60, 80, 100dbSL の click であり,電気刺激は4.0, 5.3, 6.6V の電気 shock で,刺激間隔は0.1, 0.3, 0.5, 0.7, 0.9, 1.5, 3.0, 5.0秒であつた。

4) 第2刺激に対する誘発電位の発現に,動物の個体差,第1刺激は関係なく,第2刺激のみ影響を及ぼした。

5) 動物の個体差,第1刺激の大きさ,第2刺激の大きさの間に交互作用は認められなかつた。

6) 音響刺激,電気刺激の交互作用を見ると,音響刺激又は電気刺激が各単独の場合と同じ態度をとるので,本誘発電位は動物の睡眠時における secondary discharge あるいは人間の V-potential に相当する非特異性誘発電位と考えられる。

文 献

1) 鈴木裕: 音響刺激により,覚醒時家兎に見られた大脳誘発電位とその他覚的聴力測定への応用,日耳鼻,63: 24, 1960. 2) 菊地俊次: 音響刺激による家兎大脳誘発電位の観察,第1報 音響刺激間隔と誘発電位との関係,日耳鼻,64: 1759, 1961. 3) 菊地俊次: 音響刺激による家兎大脳誘発電位の観察,第2報 1音の存

在が他音の反応閾値に及ぼす影響,日耳鼻,65: 925, 1962. 4) 菊地俊次: 音響刺激による家兎大脳誘発電位の観察,第3報 幼若家兎の誘発電位,日耳鼻,66: 273, 1963. 5) Dawson, G.D.: Cerebral responses to electrical stimulation of peripheral nerve in man, J. Neurol. Psychiat., 10: 134, 1947. 6) Dawson, G.D.: A summation technique for detecting small signals in a large irregular background, J. Physiol., 115: 2, 1951. 7) Dawson, G.D.: A summation technique for the detection of small evoked potentials, EEG Clin. Neurophysiol., 6: 65, 1954. 8) Forbes, A. and Morison, B.R.: Cortical response to sensory stimulation under deep barbiturate narcosis, J. Neurophysiol., 2: 112, 1939. 9) Davis, P.A.: Effects of acoustic stimuli on the waking human brain, J. Neurophysiol., 2: 494, 1939. 10) Forbes, A., Battista, A.F., Chatfield, P.O. and Garcia, J.P.: Refractory phase in cerebral mechanisms, EEG Clin. Neurophysiol., 1: 141, 1949. 11) H. Davis and Yoshie, N.: Some relation of the cortical-evoked response to the intensity of the acoustic stimulus, The 66th meeting of the ASA, 1963. 12) 浅輪勲: 音響刺激による覚醒時人間大脳の誘発電位とその他覚的検査法への応用,日耳鼻,62: 743, 1959. 13) Perl, E., Galamboss, R. and Glorig, A.: The estimation of hearing threshold by electroencephalography, EEG Clin. Neurophysiol., 5: 501, 1953. 14) Gastaut, Y.: Les pointes négatives évoquées sur le vertex, leur signification psychophysiologique et pathologique, Rev. Neurol., 89: 382, 1953. 15) Bancaud, J., Bloch, V. et Billard, J.: Contribution EEG a l'étude des potentiels évoqués chez l'homme au niveau du vertex, Rev. Neurol. 89: 399, 1953. 16) Allison, T.: Recovery functions of somatosensory evoked responses in man, EEG Clin. Neurophysiol., 14: 331, 1962.

稿を終るに臨み,御懇篤な御指導並びに御校閲を賜つた恩師鈴木篤郎教授に深く謝意を表します

(原稿到着=昭和39.6.3日)