

黒毛和種子ウシの臨床脳波に関する基礎的研究

鈴木 實*・七條喜一郎*・竹内 崇*
斎藤幸夫*・瀬尾哲則*・豊澤敬一郎**

平成元年 5月31日受付

Fundamental Studies on Clinical Electroencephalography of Japanese Black Calves

Minoru SUZUKI*, Kiitirou SITIZYO*, Takashi TAKEUCHI*
Yukio SAITO*, Tetunori SEO* and Keiichiro TOYOSAWA**

This experiment was to establish the electroencephalographic criteria for clinical veterinary medicine.

A study of electroencephalogram (EEG) of clinically normal Japanese Black calves were carried on to obtain control data for reference in diagnostic studies. Four calves of about one week of age were used in this experiment. The unipolar and bipolar leads were recorded on 18 channel recorder.

Both of awake and asleep EEG patterns were observed. The awake pattern showed variable voltage and variable frequency slow wave, and low voltage fast activity was apparent. The asleep pattern showed high voltage (30~150 μ V) and variable frequency, while low voltage fast activity sometimes disappeared.

The average frequency of the EEG in sleep state was from 1.8 to 2.4Hz and average voltage was from 12 to 15 μ V.

緒 言

獣医学領域における脳波 (Electroencephalogram, EEG) は小動物を中心として研究が進められ、臨床応用が検討されている^{2,3,7-9)}。その反面、大動物特にウシのEEGについての報告は少ない⁷⁾。これはEEG測定に際して、動

物を完全に拘束することが出来ないため覚醒時の記録が困難であることや、あるいは経済動物であるウシにおいて、脳神経外科的処置があまり行われないため、検査の対象として扱われる機会が少ないことなどが原因として考えられる。

紺野⁵⁾は、子ウシの水頭無脳症などの重度の中樞神経系

* 鳥取大学農学部獣医学科家畜生理学講座

* Department of Veterinary Science, Faculty of Agriculture, Tottori University

** 神戸大学農学部

** Faculty of Agriculture, Koube University

異常を伴う例においては臨床症状が一定せず、重度の発育障害を伴ったり、あるいは突然の神経症状を呈して廃用になるものが多く、その経済的損失の大きいことを指摘している。このような症例については臨床診断の補助的手段としてEEG検査が有用であると考えられるが、現在のところ子ウシのEEGの基準が確立されていない。

今回著者らは子ウシのEEGの臨床応用における基礎的研究として、導出方法、記録方法、分析方法などについて検討した。

実験方法

1. 実験動物及び導出方法

実験には、鳥取大学附属農場で出生した、生後約1週(6~7日)の黒毛和種子ウシ4頭(雌2頭,雄2頭)を用いた。

導出に際しては四肢を縛り、右側横臥位に保定した。記録電極はワニグチクリップあるいは皿電極を用いた。電極装着部位を十分に剪毛した後、70%エチルアルコールで清拭し、1%塩酸リドカイン(藤沢薬品Xylocaine)を皮下注射した。局所麻酔が得られた後、電極用ペースト(フクダ電子Keratin cream)を各電極装着部位の皮膚に塗布し、電極を装着した。皿電極を用いた場合は頭皮上にテープで固定した。

電極装着位置と頭蓋との位置関係はFig. 1に示した。すなわち、鼻背部(N)に基準電極を置き、探査電極は左右後頭(LO, RO), 左右前頭(LF, RF)及び頭頂(V)の計5点に置いた。このような電極装着位置ならびに電極数はREDDING⁹⁾の電極配置を参考として行った。EEGの導出は、単極導出を5導出(LO-N, RO-N, LF-N, RF-N, V-N)、双極導出を8導出(LO-V, RO-V, LF-V, RF-V, LO-LF, RO-RF, LO-RO, LF-RF)の計13導出とした。

電極と脳波計の各素子の入力端子は次のように短絡した。すなわち、単極導出は探査電極をGrid 1 (G_1)に、基準電極をGrid 2 (G_2)に入力した。双極導出のうち頭頂と結ぶ4導出(LO-V, RO-V, LF-V, RF-V)はVを G_1 に、その他の電極を G_2 に入力した。脳半球内導出(LO-LF, RO-RF)では前方の電極を G_1 に、後方の電極を G_2 に入力し、脳半球間導出(LO-RO, LF-RF)では左半球の電極を G_1 に、右半球の電極を G_2 に入力した。

EEGの記録は、脳波計(三栄測器1A52型)を用いて行った。被検動物は遮閉室(Shield room)内に置き、EEG記録のほか、心電図(ECG)及び呼吸曲線(RES)をも同時記録した。ECGの導出電極は針電極を使用し、第II

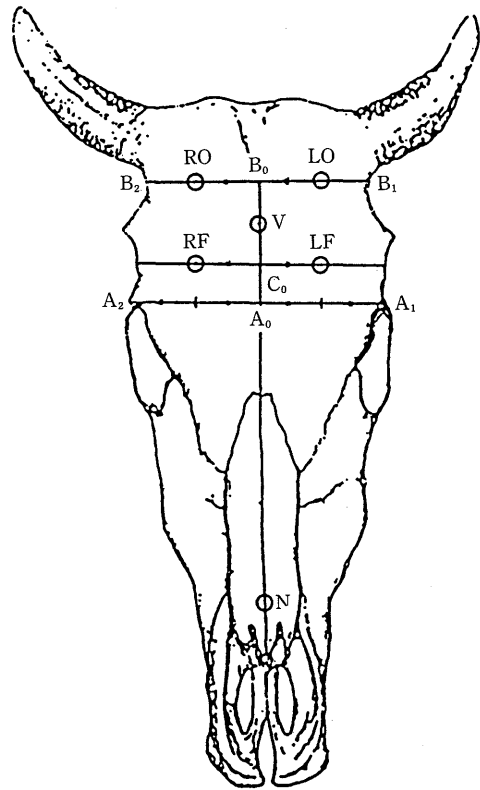


Fig.1 Position of the electrodes with respect to the skull

肢誘導で行った。RESは胸囲型トランスジューサーを使用し、吸息が上向きの曲線となるように記録した。

時定数はEEGでは0.3sec, ECG及びRESでは1.5secとし、高周波減衰フィルターを60Hzとした。脳波計の紙送り速度は30mm/sec, EEG較正電圧は $50\mu\text{V}/5\text{mm}$ で記録した。

2. 波形分析法

EEGは脳波計による記録と同時に、テープレコーダー(SONY, FR1402N)を用いて4導出ごとに磁気テープ(SONY, SIT90F)に収録し、シグナルプロセッサ(三栄測器7T08)による周波数及び振幅の分析を行った。

周波数分析は磁気テープに収録したEEGを高速フーリエ変換(Fast Fourier Transform, FFT)し、パワースペクトル演算を行った後、百分率組成及び平均周波数を求め、タイピューター(カシオ計算機, MODEL-550型)に記録した。周波数成分比は、周波数を1.0~3.5Hz, 3.5~7.5Hz, 7.5~10Hz, 10~13Hz, 13~18Hz, 18~30Hz

の6段階の周波数帯域に分け、各帯域のエネルギーパワーを百分率変換した。1回のデータ取り込み時間は約2秒 ($3.9 \times 10^{-3} \times 512$ 秒) で30回 (約1分) を1例とした。振幅スペクトル分析は同様にFFTし、更にルート変換して周波数ごとの振幅スペクトルを求め、その結果をタイピューターで記録した。この振幅スペクトルを前述した周波数帯域ごとにまとめ、各周波数帯域の振幅及び平均振幅を求めた。周波数分解能は0.195Hzとし、1回のデータ取り込み時間は約2.5秒 ($10 \times 10^{-3} \times 256$ 秒) とし、13回 (約1分) を1例とした。

実験成績

EEG記録中、子ウシの意識状態を観察し、覚醒期及び睡眠期に分類した。すなわち開眼して周囲からの刺激に対して鋭敏に反応する状態を覚醒期とし、閉眼あるいは半ば眼を閉じ、眼球運動がなく、周囲からの刺激に対して比較的無反応な状態を睡眠期とし、睡眠深度区分は行わなかった。

1. 覚醒期のEEG

ウシなどの大動物の覚醒時のEEG記録では、EEG測定期間中を通して長時間の安静状態を保ち、かつ筋電、体動などによるartifactの混入を防ぐことは難しい。本実験

では短時間ではあるが、4例で比較的artifactの少ない覚醒時のEEGが記録された。Fig. 2に覚醒期のEEGを示した。EEGのpatternはFig. 2 A, Bに示したように2種が区分された。すなわちAの警戒時には、30~80 μ V、2~6 Hzの徐波が背景活動を成し、20 μ V以下の速波が重畳してみられた。このpatternは4例で記録され、10~20秒間持続した。Bは動物が安静状態の時に記録したpatternである。波形は30~110 μ V、2~8 Hzの徐波が背景活動を成し、速波が重畳して出現するが、30~70 μ V、6~8 Hzの波が多く出現し、全体として、より振幅を増している。このようなpatternが3例で記録された。いずれのpatternも、各導出channel間で大きな差異はみられなかった。

シグナルプロセッサによる分析に必要な約1分間の安定した記録を得ることが出来なかったため、周波数及び振幅スペクトル分析は行わなかった。

2. 睡眠期のEEG

4例中3例で睡眠時のEEGを記録した。何れも比較的安定してartifactの少ない記録であった。Fig. 3にその1例を示した。波形は50~150 μ Vの高振幅徐波が連続して出現し、明瞭な徐波patternであった。20 μ V以下の速波成分の重畳がみられるが、個体によっては速波が一時的に消失するものもあった。徐波は振幅及び周波数とも変化

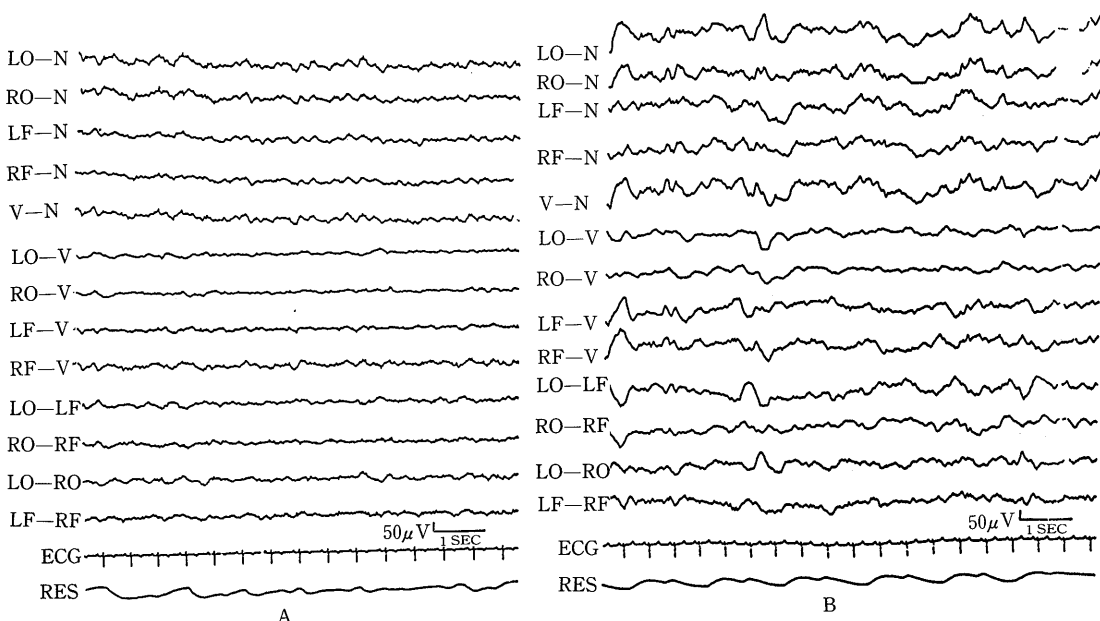


Fig.2 EEG of calf

A : Recording EEG in alert state

B : Recording EEG in relaxing state

し易く、不規則な波形が出現した。単極導出では多少の同期性がみられた。

3例のEEG記録のうち、双極導出8 channelについてシグナルプロセッサによる周波数及び振幅スペクトルの分析を行った。平均周波数ならびに平均振幅の平均値及び標準偏差をTable 1に示した。平均周波数は1.88~2.40 Hz, 平均振幅は12.12~15.04 μ Vであり、前頭の導出(LF-RF)は後頭の導出(LO-RO)に比べ高周波の傾向がみられたが、他の導出channel間では差異はみられなかった。周波数成分比は、Table 2に示すように1.0~3.5Hzの帯域が80%以上を占め、徐波が主体を成していた。周波数

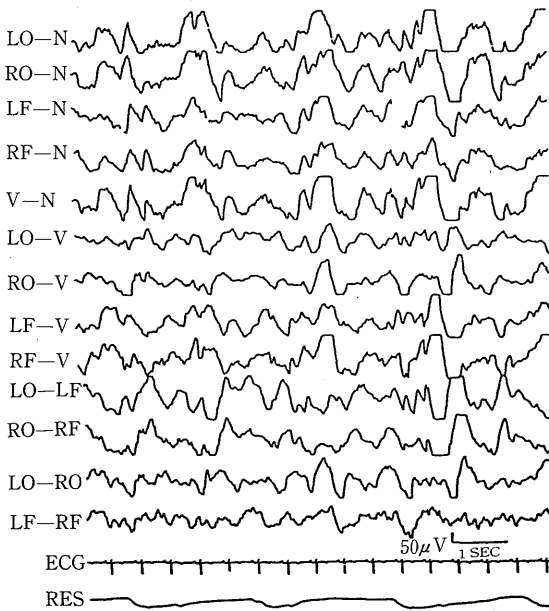


Fig.3 EEG in sleep state of calf

帯域ごとの振幅はFig. 4に示すように1.0~3.5Hzの帯域が53~104 μ Vであるのをはじめ、周波数が高くなるにつれ振幅は減少し18~30Hzの帯域では3~4 μ Vであった。導出channel間では大きな差異はみられなかった。

考 察

覚醒時及び睡眠時の子ウシのEEGについて、REDDING and KNECHT⁷⁾は5日齢の子ウシを無麻酔で記録し、覚醒時には振幅及び周波数とも変動し易い徐波に5~10 μ V, 20~25Hzの低振幅速波が重畳して出現するpatternであり、睡眠時には30~150 μ V, 3~16Hzの波が出現し低振幅速波は消失したと報告している。

著者らの実験では、約1週齢の子ウシで覚醒及び睡眠時のEEGを記録し、ほぼ同様のpatternが出現した。しかし、覚醒時のEEG patternにおいて動物が警戒状態の時と、安静状態の時では多少の差異を認めた。すなわち警戒状態では、徐波は振幅を減じ、低振幅速波の活動が更

Table 1 Frequencies and voltages of EEG in sleep state of calves

Leads	Frequencies (Hz)	Voltages (μ V)
LO-V	1.92 \pm 0.02	12.40 \pm 1.14
RO-V	1.88 \pm 0.12	12.12 \pm 2.50
LF-V	1.99 \pm 0.08	13.43 \pm 1.95
RF-V	2.04 \pm 0.11	14.56 \pm 2.63
LO-LF	1.94 \pm 0.11	14.13 \pm 2.76
RO-RF	1.88 \pm 0.10	13.31 \pm 2.90
LO-RO	2.03 \pm 0.07	15.04 \pm 2.08
LF-RF	2.40 \pm 0.11	13.93 \pm 3.03

Mean \pm SD (n = 3)

Table 2 Frequency components of EEG in sleep state of calves

(%)

Leads	1.0~3.5	3.5~7.5	7.5~10	10~13	13~18	18~30 (Hz)
LO-V	87.9 \pm 0.2	10.6 \pm 0.1	0.8 \pm 0.1	0.4 \pm 0.1	0.3 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
RO-V	87.8 \pm 1.5	10.7 \pm 1.5	0.9 \pm 0.2	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.0	0.0 \pm 0.0
LF-V	85.5 \pm 1.4	12.4 \pm 1.4	1.2 \pm 0.3	0.6 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.1
RF-V	85.8 \pm 2.7	11.9 \pm 2.0	1.4 \pm 0.5	0.6 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	0.0 \pm 0.0
LO-LF	86.7 \pm 1.8	11.5 \pm 1.2	1.0 \pm 0.3	0.6 \pm 0.2	0.2 \pm 0.1	0.1 \pm 0.0
RO-RF	88.0 \pm 2.1	10.4 \pm 1.6	1.0 \pm 0.3	0.4 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1	0.0 \pm 0.0
LO-RO	87.6 \pm 1.3	10.0 \pm 0.9	1.1 \pm 0.2	0.7 \pm 0.1	0.4 \pm 0.0	0.1 \pm 0.0
LF-RF	81.1 \pm 1.4	14.8 \pm 1.2	2.1 \pm 0.3	1.1 \pm 0.1	0.6 \pm 0.1	0.2 \pm 0.1

Mean \pm SD (n = 3)

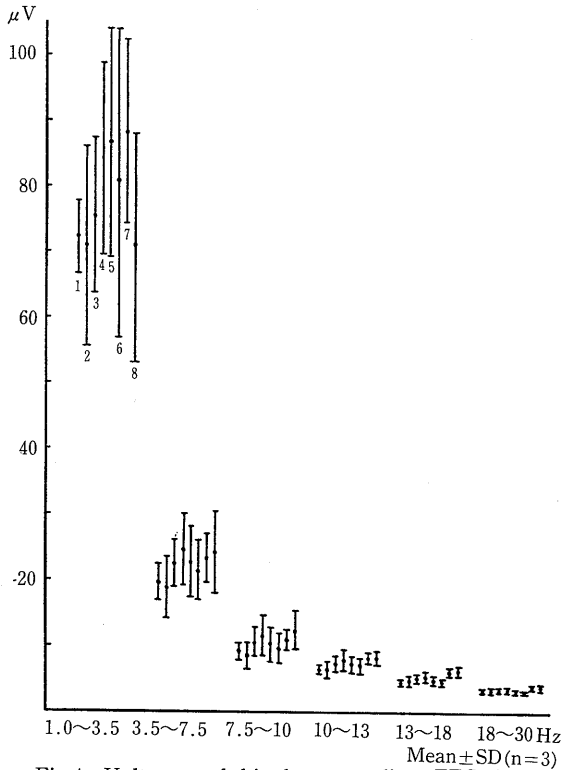


Fig.4 Voltages of bipolar recording EEG in sleep state of calves
 1: LO-V, 2: RO-V, 3: LF-V, 4: RF-V
 5: LO-LF, 6: RO-RF, 7: LO-RO, 8: LF-RF

に活発となっている。このことは動物の意識状態の高揚を示唆すると考えられ、ヒトのEEGにおける“はっきり目覚め状態”のpattern⁶⁾に相当するものと思われる。

睡眠の各段階におけるEEG patternの変化について、Fox^{2,3)}はイヌのEEGで、入眠期、睡眠期、REM (Rapid Eye Movement) 睡眠期のpatternを区分している。KLEMM⁴⁾はヤギのEEGを睡眠期、REM睡眠期に分類し、睡眠期には周波数の変動し易い徐波が出現し、REM睡眠期には低振幅速波が出現したと報告している。同様にヤギのEEGについて菅原¹⁰⁾は、便宜的に4 Hz以下の徐波が持続して出現した場合を徐波期とし、速波と徐波が頻繁に交錯する場合を混合波期とし、また頸部の筋電図が消失し、かつ速波の出現する期間をREM睡眠期として分類している。

本実験では、見かけ上からの睡眠期とし、厳密な睡眠深度の区分をしなかったため、睡眠の深度に伴うEEGのpatternの変化を捉えることは出来なかった。従って、今後、筋電図の同時記録等による深度の基準を定め、さら

に詳細に検討する必要がある。

以上述べたようにEEGは動物の意識状態により変動するが、それ以外に年齢あるいは薬物などの諸要因によって大きく変動する。SENBA⁹⁾はイヌの加齢に伴うEEGの変動について検討し、1日齢では等電位であったものが1週齢で律動波が常時出現するようになり、2週齢では覚醒と睡眠との判別がEEG上で可能になったと報告している。また、ネコでは4~6週齢でようやく覚醒と睡眠時のEEGが区別されると報告されている¹¹⁾。

本実験では、約1週齢の子ウシにおいて既に覚醒と睡眠時のEEG patternが明確に区別されたことから、出生時にはある程度、中枢神経系の機能が発達していることが推察される。しかし、EEGが成熟patternとなる正確な時期等については今後更に検討したいと考えている。

シグナルプロセッサーを用いた分析結果は、実験成績の項で既に述べたように、睡眠時の周波数成分比では、1.0~3.5Hzの帯域が80%以上を占めた。これは徐波優勢のEEG patternと一致した結果であった。また、前頭部の導出channelと後頭部の導出channel間において前者が多少高い周波数であったことの原因は不明であるが、一つ考えられることは、前頭部領域には体性感覚野が存在することから、ウシでは睡眠状態であっても感覚中枢はある程度活動状態であり、外部の環境に即座に対応できるような機構が備わっていることを示唆するものかもしれない。

菅原¹⁰⁾は、ヤギにおいて速波と徐波の混合期では光刺激に対して鋭敏に反応し、また、徐波期であっても光刺激に反応して速波相へ移行する場合があったと報告している。すなわち、反芻動物では睡眠状態であっても外部の刺激に対しては鋭敏な対応を示すものと考えられる。

また、BALCH¹¹⁾は他の動物種では深睡眠や麻酔時に出現するEEG patternが、反芻動物においては深睡眠の兆候なしに、休息時あるいはぼんやりとした状態で出現すると報告している。従って反芻動物では高振幅徐波のpatternが出現したからといって、ただちに深睡眠の状態を示すものではないということを考慮しなければならない。

結 論

子ウシのEEGを臨床に応用するための基礎的研究として、生後約1週齢の黒毛和種子ウシ4頭のEEGを頭皮上から記録し、検討した。

その結果、1週齢で既に覚醒と睡眠時のEEG patternが明らかに区別され、覚醒時では更に警戒時と安静時で異

なるpatternが出現した。睡眠の深度に伴うEEGの変化については深度区分の基準を定めて検討する必要がある。これらの結果から、子ウシでは出生時にはすでに中枢神経系の機能がある程度発達していることが推察された。

睡眠時のEEGにおける周波数成分は1.0~3.5 Hzの帯域が80%以上を占め、高振幅徐波patternと一致する結果であった。

謝 辞

本研究に当たり実験牛の使用にご協力下さった本学農学部附属農場小原隆三教授ならびに農場畜産部の方々に感謝いたします。

文 献

- 1) Balch, C. C. : Sleep in ruminants. *Nature*, 175 940-941 (1955)
- 2) Fox, M. W. : Postnatal development of the EEG in the dog II. *J. small Anim. Pract.*, 8 77-107 (1967)
- 3) Fox, M. W. and Stanton, G. : A developmental study of sleep and wakefulness in the dog. *J. Small Anim. Pract.*, 8 605-611 (1967)
- 4) Klemm, W. R. : Sleep and paradoxical sleep in ruminants. *Proc. Soc. exp. Biol. and Med.*, 121 635-638 (1966)
- 5) 紺野 悟：アカバネ病の病理発生。獣医学1986。伊沢久夫，清水悠紀臣編，近代出版，東京（1986）pp. 39-58
- 6) 真島英信：生理学。18版，文光堂，東京（1988）pp. 185-188
- 7) Redding, W. R. and Knecht, C. E. : *Atlas of electroencephalography in the dog and cat*. Preager, New York. (1984)
- 8) Redding, W. R. : A simple technique for obtaining an electroencephalogram of the dog. *Am. J. Vet. Res.*, 25 854-857 (1964)
- 9) Senba, H., Tokuriki, M., Sasaki, N., Takeuchi, A. and Usui, K. : Developmental EEG of the beagle dog. *Jpn. J. Vet. Sci.*, 46 771-781 (1984)
- 10) 菅原 伯：反芻動物の脳波に関する研究。I. ヤギの脳波について。日獣誌，33 25-37 (1971)
- 11) 吉井直三郎，谷嘉代子：脳の発達—乳幼児の生理と心理（I）。臨脳波，14 229-243 (1972)