HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	脳機能研究の新しい道具：脳灌流法
Author(s)	稲垣, 陸史; 田村, 守
Citation	電子科学研究, 1, 72-74
Issue Date	1993
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/24285
Type	departmental bulletin paper
File Information	1_P72-74.pdf

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

脳機能研究の新しい道具
—— 脳灌流法 ——

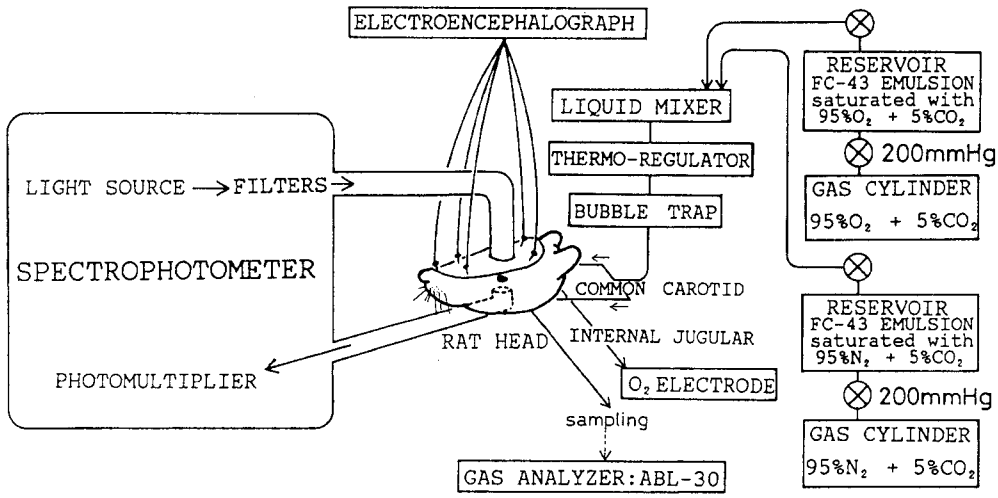
超分子分光研究分野　稲　垣　陸　史，田　村　　守

ラット頭部の人工血液による脳灌流標本の作製とその分光学的性質を詳細に検討した。FC-43の人工血液を定圧下で総頚動脈よりカニューレを介して灌流を行った。灌流標本の自発脳波は正常ラットと同様であり，灌流開始後～6時間にわたって記録できた。また，光刺激に対しても正常な応答が見られた。種々のテンカン誘発薬物に対しても，典型的なスパイク状脳波の応答が観察できた。以上より，電気生理学的には "intact" な脳灌流標本であると結論した。

可視－近赤外領域の吸収スペクトル測定より，脳内ミトコンドリアは完全酸化の状態にあり，低酸素負荷に対し，チトクロームオキシダーゼの二つの酸化－還元中心，ヘムと銅，は速やかに還元され，同時に脳波が消失した。これらの事より，我々が作製した，血液を用いない摘出ラット脳灌流標本は今後の脳機能研究に有効であると結論した。

はじめに

脳組織は各種の臓器の中でその機能が最も強く酸素代謝に結びついている。このことは，脳機能研究の上で，循環動態の変動がしばしば脳組織の種々の応答を埋もれさせてしまう。このため，循環系から切り離した脳灌流標本は脳機能研究の上で優れた実験系といえる。しかしながら，現在までその生理的・生化学的に正常に機能し得る，摘出脳灌流標本の作製は困難であった。特に，他の心臓や肝臓で行われている血液を用いない灌流法はまだ確立されていない。今回，我々は人工血液(FC-43)を用いた新しい脳灌流法をラット頭部に採用し，良好な結果を得たのでその一部を紹介する。



Schematic diagram of the perfusion system for a rat head. The isolated rat head was perfused with the oxygenated FC-43 emulsion at a constant pressure (200 mmHg) using cylinder pressure regulators. The apparatus in this system was carefully insulated against electric noise.

図1　ラット脳灌流系のブロックダイヤグラム

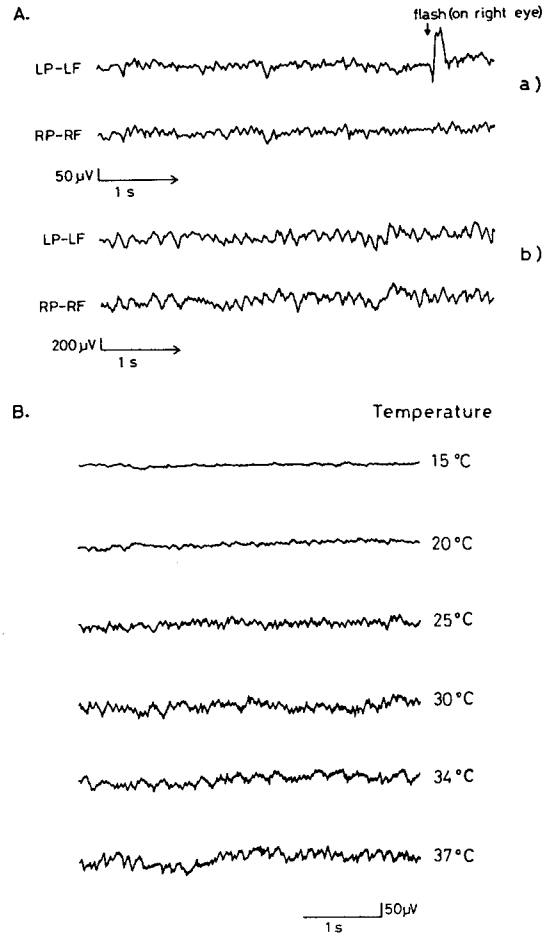


図 2 (A) (a) 摘出灌流脳の自発脳波と光刺激
(b) 麻酔ラットの自発脳波
(B) 灌流脳の温度依存性

脳灌流標本の作製

図1に全体の実験系のブロックダイヤグラムを示す。95%酸素と5%炭酸ガスで飽和した人工血液(FC-43)を200 mmHgの動脈圧でラット総頚動脈よりカニューレを介して灌流を開始する。この時，手術中，脳への血液が常に維持される特別なループカニューレを用いた。ラット頭部に脳波用電極を着け，同時に近赤外吸収スペクトルの測定用のライトガイドを装着した。

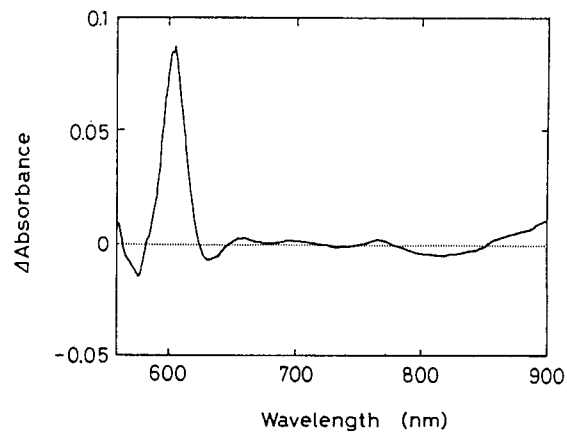


図 3 灌流脳の好気－嫌気差スペクトル

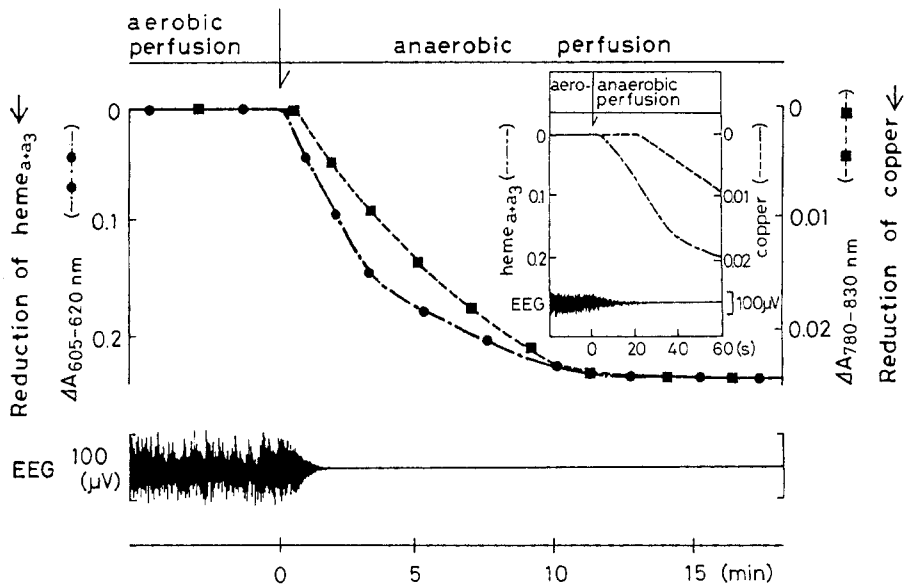


図 4 好気－嫌気における灌流脳のチトクロームオキシダーゼの変化と脳波

結　果

図2の(A)は摘出脳標本の自発脳波(a)と右目に光を照射した時，(B)は正常麻酔ラット脳波である(b)。(B)は灌流脳の脳波の温度依存性を示しており，25－30°Cで灌流開始後約4～6時間，正常な脳波が観察された。

図3にラット頭部の好気－嫌気のスペクトルを示す。605 nmに吸収極大，～830 nmに吸収極小が見られ，前者はミトコンドリアのチトクロームオキシダーゼのヘムの還元，後者は銅の還元に対応する。

次に摘出脳標本を好気状態から嫌気状態に変えると図4に見られるようにヘムの還元が銅の還元に先行し，約40%還元された時に脳波が消失する。この時に脳内の酸素濃度は10^{-7}近くまで下がっていることが判る。図5に図4で得られたチトクロームオキシダーゼのヘムと銅の酸化—還元を灌流液の酸素濃度に対しプロットした(A)と，相互の関係(B)を示す。

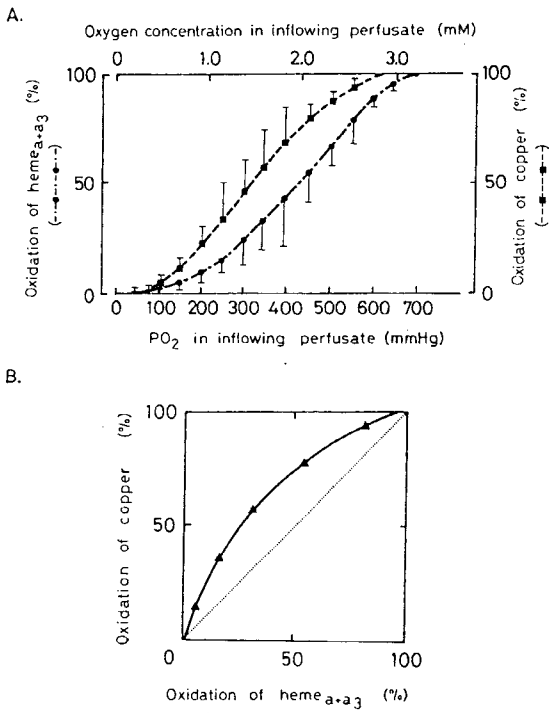


図5　(A)　灌流脳のチトクロームオキシダーゼの酸素濃度依存性
(B)　チトクロームオキシダーゼのヘムと銅のプロット

考　察

血液を用いない脳灌流標本を作製し，脳波，光刺激，薬物応答からほぼ正常な脳機能を維持していると結論できた。また，図3，4からも理解されるように，血液が存在しないため，各種の分光学的手段が利用でき，特に近赤外領域でのチトクロームオキシダーゼの酸化－還元を追求できる。この結果は正常血流下での各種の結果と比較し得るもので，特に図4の(B)から，脳組織は活発な酸素消費を行うState-3呼吸であると結論した。今後，この標本を用いて種々の薬物等や生化学的挙動の研究を行いたい。

【参考文献】

M. Inagaki,and M.Tamura, J.Biochemistry, *113* 650－657 (1993)