

マイクロダイアリシスー連続流れ分析法による生体の *in vivo* リアルタイム計測

大阪府立大学工学部・先端科学研究所 八尾 俊男

我々の脳細胞は生命を維持するためにどのように働いているのだろうか。なぜ、香しい薫りは心身をリラックスさせるのでしょうか。「喜び、怒り、悲しみ」、感情とはなになるのだろうか。夜、眠くなるのはなぜだろう。これらは人間が人間である生の営みである。では、いったい脳細胞でなにが起こっているのでしょうか？ 分子科学的にみれば、化学的物質情報のシナプスでの神経伝達がそこにあるらしい。

脳科学に分析化学的手法によるメスを入れ、脳内物質情報を *in vivo* 計測しようとする分析化学者の挑戦は結構以前から行われており、針状あるいはファイバー状のマイクロセンサー（バイオセンサーを含む）を脳の一定個所に埋め込み、カテコールアミンなどの神経伝達物質を計測しようとした（図 1.A）。しかし、生体の防御システムによりタンパク質が強く吸着することから感度が低下し、またその感度を *in vivo* で保証することが難しいことから、一般に長期間にわたる計測には使えないなど問題が多い。そこで、マイクロダイアリシスプローブによるサンプリング手段が登場した。これは脳細胞液を *in vivo* で採取し、HPLC で検出するものであるが（図 1.B）、ある時間間隔で計測するのでリアルタイム計測とはいえず、またある一定時間での平均的な物質情報しか得られない。

しかし、神経細胞の挙動は連続的かつ瞬間的であるのでこの方法では不完全な知見しか得られない。

そこで、マイクロダイアリシスプローブと流れ分析法を結合した方法が検討されている。プローブの形状にはいろいろなものがあるが、一般的に用いられているものの概略を

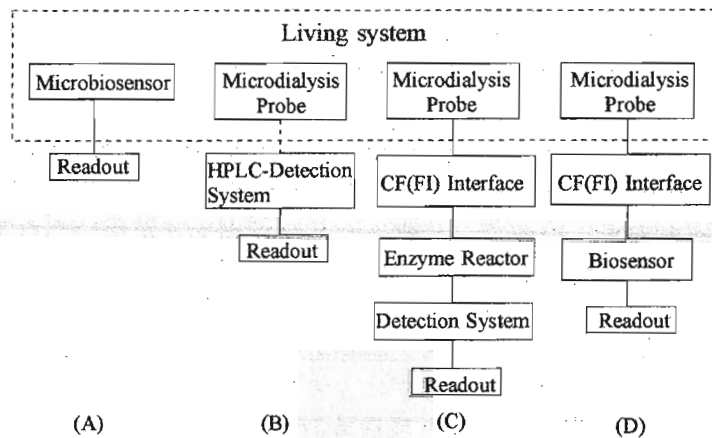


Fig. 1. Different approaches used for continuous *in vivo* analysis of tissue fluid. HPLC: high pressure liquid chromatography; CF: continuous flow; FI: flow injection.

図 2 に示す。先端には透析ファイバーがあり、リンゲル液を上部から流すことにより、脳細胞液中の低分子量物質だけを透析する。測定に選択性を与えるために、特定成分を分子認識できる酵素を固定化した酵素リアクターやバイオセンサーによる検出系が下流に用いられる（図 1.C, D）。

Fang ら¹⁾は、ダイアリシスプローブの先端(透析ファイバー部)を皮下に埋め込み、リンゲル液を 20 $\mu\text{L}/\text{分}$ の流速で流して 80 秒間透析し、透析した液を八方バルブのループに満たし、バルブを切り換えることで固定化酵素を備えた FIA 系(通常の $\text{mL}/\text{分}$ の流速)に注入してグルコースを検出する方法を開発した。検出系はルミノール-フェリシアン化カリウムによる H_2O_2 の化学発光に基づいている。この方法は脳内グルコースの *in vivo* 計測に応用できるが、プローブでサンプリングしてオンライン検出する方法であるので、断続的で平均化された物質情報しか得られず(28 試料/時間)、やはりこのような目的には FI よりも CF の方がより好ましいと考えられる。

マイクロ透析プローブから透析された成分のうち、特定成分をオンラインでバイオセンサー、特に酵素センサーで検出する方法がある。透析プローブとバイオセンサーをつなぐインターフェースにはほとんど CF 流路系が用いられている。この流路系を用いて、グルコース²⁾、乳酸とグルコース^{3, 4)}、 γ -アミノブチリル酸⁵⁾が検出されている。透析プローブへのリンゲル液の通液には、透析効率を考えると 10 $\mu\text{L}/\text{分}$ 以下の流速が望ましいので、一般にシリンジポンプが用いられているが、シリンジ壁面の摩擦のため流量変動があり、ダブルプランジャー型の高精度な μL ポンプの登場が期待される。また、一般にプローブの透析効率は 10%以下であるので、特に微量成分の検出には高感度な検出システムが必要であり、著者らはバイオリクターやバイオセンサーを基質リサイクリングにより高感度化し、L-グルタミン酸などの脳内神経伝達物質を *in vivo* 測定しようとして現在検討中である。

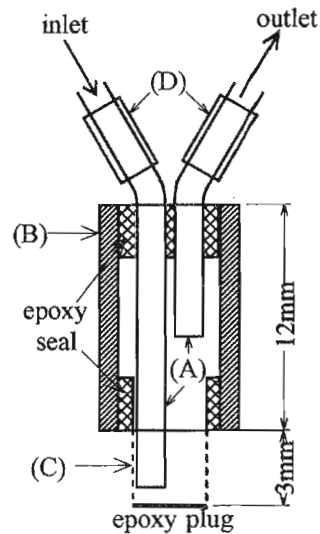


Fig. 2 Schematic diagram of microdialysis probe. (A) fused silica tube (o.d. 150 μm , i.d. 75 μm); (B) fused silica tube (o.d. 470 μm , i.d. 350 μm); (C) dialysis fiber (o.d. 220 μm , i.d. 200 μm); (D) stainless steel tube (o.d. 440 μm , i.d. 220 μm).

- 1) Q.Fang, X.T.Shi, Y.Q.Sum, and Z.L.Fang, *Anal. Chem.*, 69, 3570-3577 (1997).
- 2) T.Vering, S.Adam, H.Drewer, C.Dumschat, R.Steinkuhl, A. Schulze, E.G.Siegel, and M.Knoll, *Analyst*, 123, 1605-1609 (1998).
- 3) E.Dempsey, D.Diamond, M.R.Smyth, M.A.Malone, K.Rabenstein, A.McShane, M.McKenna, and R.Freaney, *Analyst*, 122, 185-189 (1997).
- 4) P.G.Osborne, O.Niwa, and K.Yamamoto, *Anal. Chem.*, 70, 1701-1706 (1998).
- 5) O.Niwa, R.Kurita, T.Horiuchi, and K.Torimitsu, *Anal. Chem.*, 70, 89-93 (1998).