

専攻	システム 情報工学	学籍番号	821310	指導教官氏名	宮崎 保光
申請者氏名	佐藤 智夫				臼井 支朗
					後藤 信夫

論 文 要 旨

論文題目	生体組織における膜電位の光学的多波長同時計測に関する研究
------	------------------------------

(要旨 1,200字以内)

膜電位感受性色素を用いた光学的膜電位計測は、無侵襲に多数箇所での膜電位計測が可能であり、神経回路における情報処理機構や心臓の興奮伝搬の解明に有効な手法である。しかし、intactな状態の大脳皮質や心臓の計測では、計測領域の位置的な変動により生じる motion artifactと呼ばれる光散乱が問題となる。本論文では、レーザー光源を用いた膜電位計測装置を開発し、ラット大脳皮質、コイ心室における活動電位の蛍光計測を行うとともに、膜電位を反映しない反射光を同時に記録することにより motion artifactの検出、除去を実験的に検討した。

膜電位感受性色素として、Nile Blue A及びWW781を用いた。光源にHe-Neレーザー(632.8nm)を用い、光ファイバ、セルホックレンズ、音響光学光変調器、分光器及び光電子増倍管により構成される、小型で汎用性の高い光学的膜電位計測装置を開発した。

座骨神経刺激による誘発活動電位をラット大脳皮質において計測した。ネンブタール麻酔下で、大脳皮質計測領域上の頭蓋骨、硬膜を切除し、0.02mg/mlのNile Blue A溶液で1時間染色した。He-Neレーザーで励起した場合、蛍光放射は680nmで極大となった。大脳皮質上の計測領域と対側の座骨神経を電氣的に刺激すると、蛍光放射は1-2%

増加した。このとき、反射光強度の増加はなく、潜時は200msec程度であった。

摘出したコイの心室の自発的な興奮を、Nile Blue A及びWW781の蛍光放射を用いて光学的に計測した。心室の収縮によるmotion artifactの検出のために、分光器内にフォトダイオードを増設し、反射光を受光した。膜電位に依存する蛍光放射と依存しない反射光の時間変化波形を比較し、その差分を取ることでよりmotion artifactの除去を行った。Nile Blue A溶液で心室を染色すると、680nmで蛍光極大となり、活動電位に応じて蛍光放射は4%増加した。この蛍光放射強度変化は波長に依存していなかった。WW781を用いた場合、濃度0.1mg/mlの色素溶液で30分の染色が必要であった。蛍光放射は655nmで極大となり、活動電位に対して3%増加した。

He-Neレーザー光を音響光学偏向器で1次元にビーム走査し、コイ心室活動電位を4点より計測し、ガラス微小電極による計測と比較した。染色後の心室表面にレーザー光を照射し、WW781より生じる蛍光放射強度を1.0msec毎に計測した。心室表面上のビームスポット間隔は1.0mmであった。蛍光の受光はフォトダイオードで行い、励起光と励起光の反射と蛍光の分離はシャープカットフィルタで行った。活動電位の立ち上がりにおいて、蛍光放射強度は5%程増加した。最も離れた2点間で、蛍光放射の増加開始時刻には4msecの差があった。この時間差はガラス微小電極による計測結果と同程度であった。