



ラット新生仔一過性低酸素虚血負荷が線条体局所血流とプリン体代謝に与える効果に関する研究

三宅, 理
米谷, 昌彦

(Citation)

神戸大学医学部紀要, 60(2/3/4):209-217

(Issue Date)

2000-03

(Resource Type)

departmental bulletin paper

(Version)

Version of Record

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/00042547>



ラット新生仔一過性低酸素虚血負荷が線条体局所血流と プリン体代謝に与える効果に関する研究

三宅 理, 米谷 昌彦

神戸大学医学部小児科学講座

(指導: 中村 肇教授)

連絡先: 米谷 昌彦

神戸大学医学部小児科

〒650-0017 神戸市中央区楠町 7-5-1

内線: 6090, FAX: 078-382-6099

(平成12年2月16日受付)

要 約

アデノシン (adenosine) は脳の血流調節物質や神経伝達物質の一つとして虚血後再灌流による神経細胞障害の発症に関与するといわれている。今回の研究では、ラット新生仔一過性低酸素虚血モデルを作成して、線条体での局所血流の変化と、細胞外液中のアデノシンとその代謝産物であるプリン体の動態について検討した。一過性低酸素虚血負荷には、左総頸動脈のクリッピングと8%酸素の吸入を行ったのち60分後にクリッピングと低酸素負荷を共に解除する方法を用いた。線条体局所血流量は低酸素虚血負荷により負荷前の48±22%まで減少するが、負荷終了後には速やかに前値まで回復し、さらに60分後には76±25%まで漸減した。線条体細胞外アデノシン濃度は、負荷により徐々に増加し、負荷前の平均790%をピークとして負荷終了後60分ではほぼ前値まで復した。アデノシンの代謝産物であるイノシン、ヒポキサンチン、キサンチンの濃度は、負荷開始後、30分ごろより増加し始め、それぞれ負荷前の平均16.2倍、50.6倍、37.2倍まで増加した。キサンチンは負荷終了後には速やかに減少したのに対し、ヒポキサンチンは終了後60分でも高値が持続していた。細胞外アデノシン濃度は低酸素虚血と再灌流時に有意な増加を認め、アデノシンが再灌流時の血流維持に関与する可能性が示唆された。一方、再灌流時にヒポキサンチン濃度の高値が持続することは、活性酸素の発生源となり再灌流障害発症に関わる可能性があると考えられた。

緒 言

新生児の治療管理方法が日進月歩していく中で、神経学的予後の改善は未だ大きな課題である。出生時に合併した仮死に発症する低酸素性虚血性脳症 (hypoxic/ischemic encephalopathy :HIE) は、古くから多くの研究者達によってその複雑な病態が明らかにされつつあるが、未だに解明されない点も山積している。最近の研究では、低酸素虚血のストレスそのものでなく、その後の再灌流あるいは再酸素化が障害の発生に大きく寄与することが指摘されている^{1,2)}。蘇生により脳組織が再灌流されると同時に、白血球の遊走浸潤が起こり³⁾、その傷害組織からは活性酸素が発生する^{4,5)}など、再灌流時に神経傷害の増悪を招くことが明らかになってきた。

古くから、再灌流に関わる血流調節因子の一つとしてアデノシン (Adenosine) が挙げられ、心筋虚血後の冠動脈再灌流に関与することは古くから知られている⁶⁾。アデノシンはプリンスクレオシドの代謝産物としてATPの分解過程で生成され、血管拡張因子としての作用を持っている。Berne ら⁷⁾は脳内でもアデノシンは分泌され脳血管に対して血管拡張作用を有していることを示した。アデノシンアンタゴニストであるテオフィリンを用いた間接的な証明も多数あり^{8,9,10,11)}、また同じく血管拡張作用を持つとされる一酸化窒素とも相互作用のあることが報告されている¹²⁾。最近ではアデノシンはプレシナプスに存在するアデノシンセプターを介し、神経細胞への過剰なカルシウムイオンの流入を阻止することにより脳保護に働く可能性が指摘されているが、その一方で、その代謝過程において活性酸素の発生が助長されることにより、組織

キーワード: 低酸素性虚血性脳症, 再灌流障害, 局所脳血流, アデノシン, ヒポキサンチン, キサンチン

傷害を引き起こす可能性も示唆されている¹³⁾。

活性酸素の発生にはいくつかの代謝経路が知られており、そのひとつがキサンチン酸化還元酵素 (xanthine-oxidoreductase; XOR) を介するキサンチン代謝経路がある。Betzらは、XORが脳内の毛細血管内皮細胞に富んでいることを示している¹⁴⁾。アデノシンはその代謝経路の上流に位置しており、イノシン (inosine) を経てヒポキサンチン (hypoxanthine) からキサンチン (xanthine) さらに尿酸へと代謝される。その過程において、平穩状態ではXORがNADを還元剤とするキサンチン・ハイドロゲナーゼ (xanthine-hydrogenase) を主体とするのに対し、低酸素虚血・再灌流時には、酸素を還元剤とするハサンチン・オキシダーゼ (xanthine-oxidase) が優勢となり、この代謝過程において活性酸素が発生する^{15, 16)} (図1)。

今回、我々はラット新生仔を用いて一過性低酸素虚血 (hypoxia/ischemia: HI) モデルを作成し、低酸素虚血開始前から終了後の再灌流に至るまで、経時的に線条体における脳血流をモニタリングながら、マイクロダイアリシス法を用いて経時的に採取した灌流液よりアデノシンとその代謝産物であるプリン体の濃度を測定することにより、それらの動態を明らかにすることを目的とした。

方 法

Sprague-Dawley ラット 7日齢 ($n=7$) を対象として、一過性HIモデルを作成した^{14, 15, 16)}。ウレタン (ethyl carbamate; 東京化成, 東京) を1.8g/kgを皮下投与により麻酔した。麻酔後ラットの左頸部に5mmの皮膚切開を施し、軟部組織を剥離して左総頸動脈を同定し、絹糸を懸けた。さらに頭皮を正中にて切開し左頭蓋にドリルで直径2ミリの穴を開けた後、ラットの頭部を固定装置に固定した。左線条体へ向けて、プレグマ (bregma: ヒトの大泉門に相当) より、鼻側へ1.0mm, 外側へ2.5mm, 深さ5.0mmの位置にLaser Doppler血流計 (PF319, Perimed, Stockholm) のマイクロプローブとマイクロダイアリシス・プローブ (CUP11, Bioanalytical Systems, 東京) を合わせて留置した。マイクロダイアリシス・プローブは人工脳脊髄液にて還流した。処置後、装置と組織の安定を図るために2時間の安定期を置いた。体温は、保温マット (CMA150, Bioanalytical Systems, 東京) を用いて37.0°Cに設定した。

一過性のHI負荷は、予め絹糸を懸けておいた左総頸動脈を脳外科用動脈瘤クリップ (Sugita Mini Aneurysm Clip; Mizuho, 東京) でクリッピングした後、ラットを設置したチャンバー内を直ちに8

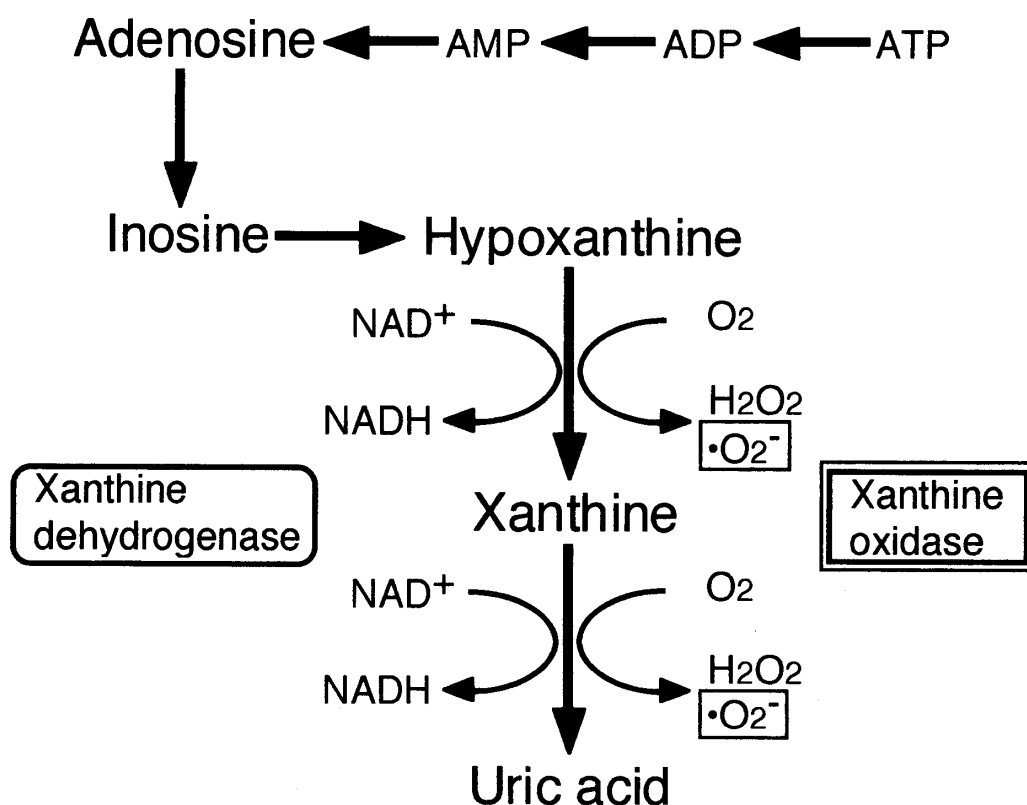


図1. プリン体の代謝および活性酸素の発生経路

%酸素で満たし、60分後にクリッピングも解除すると同時に低酸素負荷も中止した。負荷30分前より負荷終了後60分までの150分間にわたり、Laser Doppler血流計による線条体局血流量のモニタリングを行い、同時にマイクロダイアリシスにより10分毎に採取された灌流液から。アデノシンとプリン体代謝産物、すなわちイノシン、ヒポキサンチン、キサンチンの各々の濃度を、HPLCと蛍光検出器（CMA, Bioanalytical Systems, 東京）を用いて測定した¹⁷⁾。なお、データの処理解析にはMacLab/4e（AD Instruments, 名古屋）を用いた。統計学的検定にはone-way ANOVAとFisher-PLSD法を用いて、 $p < 0.05$ を有意差ありと判定とした。

結 果

虚血の程度を評価するために、Laser Doppler血流計による線条体局所血流量のモニタリングを行った。低酸素虚血負荷により線条体血流量は負荷前の $48 \pm 22\%$ まで減少し、負荷終了後は速やかにほぼ前値まで回復したが、さらに1時間後には $76 \pm 25\%$ に漸減した（図2）。この結果より、我々の用いたHIモデルでは約50%の虚血がなされていることが示された。

次にラット線条体間質における各プリン体濃度の変化を示す。アデノシンの濃度は、負荷により徐々に増加し、再灌流開始後10分にてピークを迎えた。負荷前の7.9倍をピークとして漸減し、負荷終了60分後には

ほぼ負荷前値にまで復帰した（図3）。

イノシン、ヒポキサンチン、キサンチンの濃度は、負荷開始後30分頃より増加し始め、それぞれ、最高、負荷前の平均16.2倍、50.6倍、37.2倍まで増加した（図4, 5, 6）。キサンチンは負荷終了後には速やかに減少したのに対し、ヒポキサンチンは負荷終了後も増加し続け、60分後でも高値を持続していた。

考 察

アデノシンは心臓^{18, 19)}、腎臓²⁰⁾等の組織灌流の維持に関与することが指摘され、新生児遷延性肺高血圧症に対しアデノシンの全身投与で有効であった²¹⁾という報告も見られる。アデノシンは哺乳動物の中樞神経系において神経伝達物質としても重要な因子である²²⁾など、古くからその潜在的な役割は注目されていたが、全身的に普遍的に存在するためその動態を追うことが困難であった。近年、HPLCを用いた分析などで評価が可能となり、また、マイクロダイアリシス法の応用により、経時的の脳局所での変化を追跡することが可能となった。

今回、我々はラット新生仔を用いて一過性の脳HIモデルを作成し、アデノシンとその代謝産物であるプリン体の、虚血低酸素負荷と再灌流時の細胞外濃度の動態について明らかにした。ラット新生仔を用いたHIモデルは、片側頸動脈の結紮離断と8%酸素を負荷するRiceら²³⁾の方法が、それ以降の多くの研究者ら

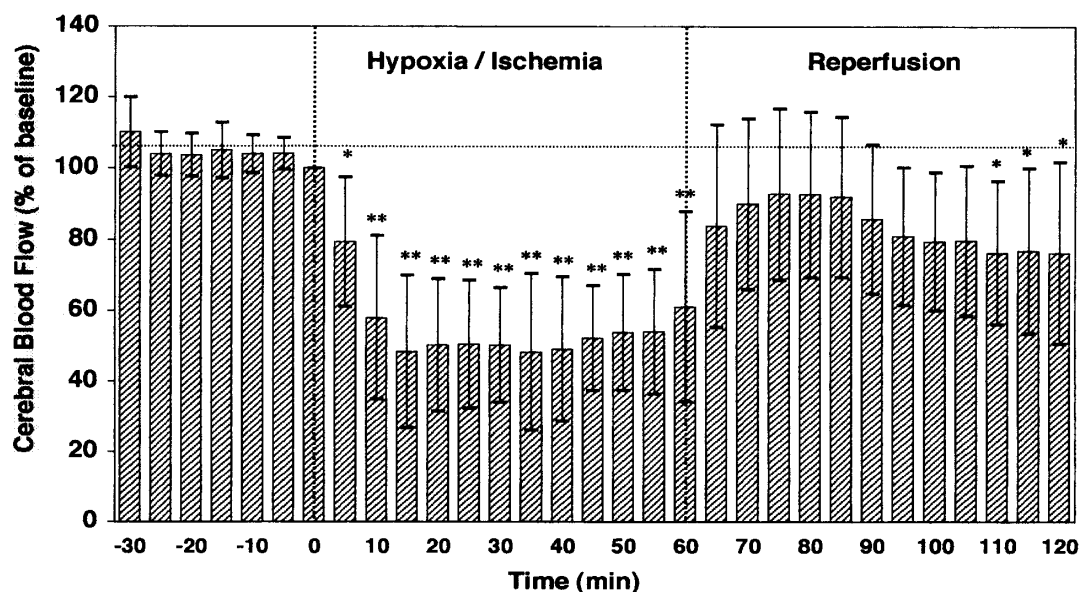


図2. 一過性低酸素虚血負荷に対するラット脳線条体血流量の変化
数値は平均値±標準偏差にて示した。負荷前の基準値を100%として比較した。
*は $p < 0.05$ を、**は $p < 0.01$ を示す。

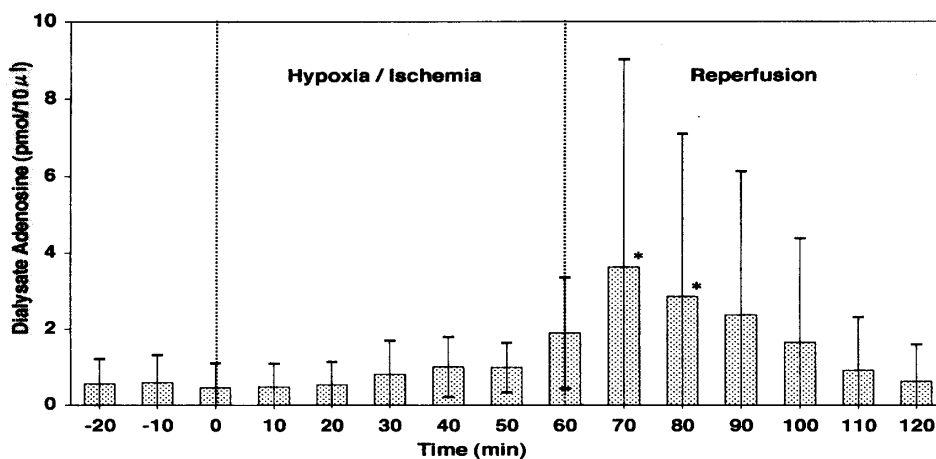


図3. 低酸素虚血負荷に対する線条体細胞外アデノシン濃度の変化
 数値は平均値±標準偏差にて示した。負荷開始時を基準値として比較した。
 *は $p<0.05$ を示す。

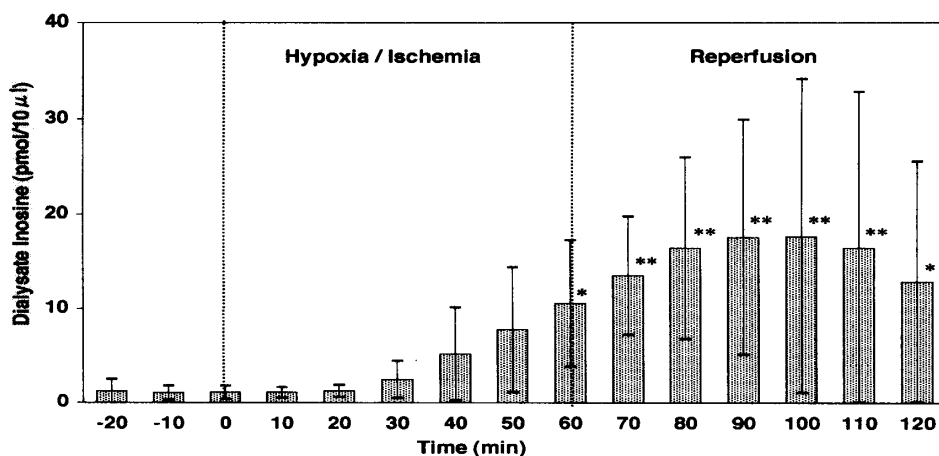


図4. 低酸素虚血負荷に対する線条体細胞外イノシン濃度の変化
 数値は平均値±標準偏差にて示した。負荷開始時を基準値として比較した。
 *は $p<0.05$ を, ** $p<0.01$ を示す。

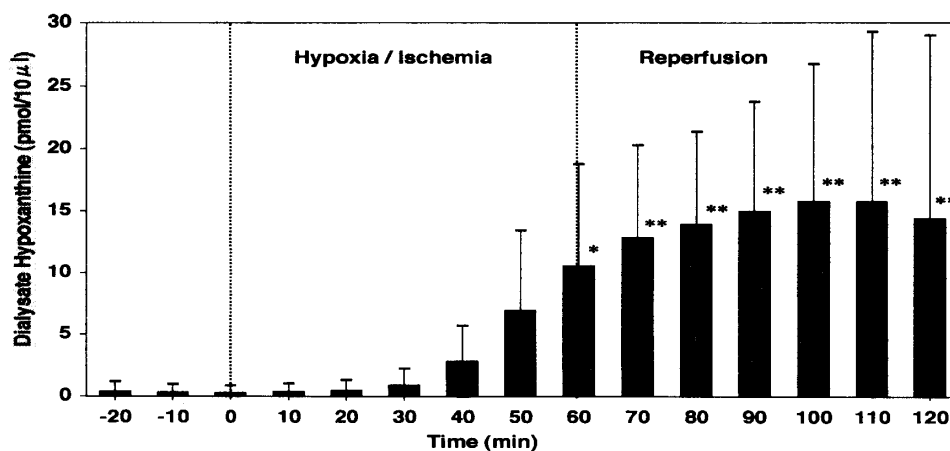


図5. 低酸素虚血負荷に対する線条体細胞外ヒポキサンチン濃度の変化
 数値は平均値±標準偏差にて示した。負荷開始時を基準値として比較した。
 *は $p<0.05$ を, ** $p<0.01$ を示す。

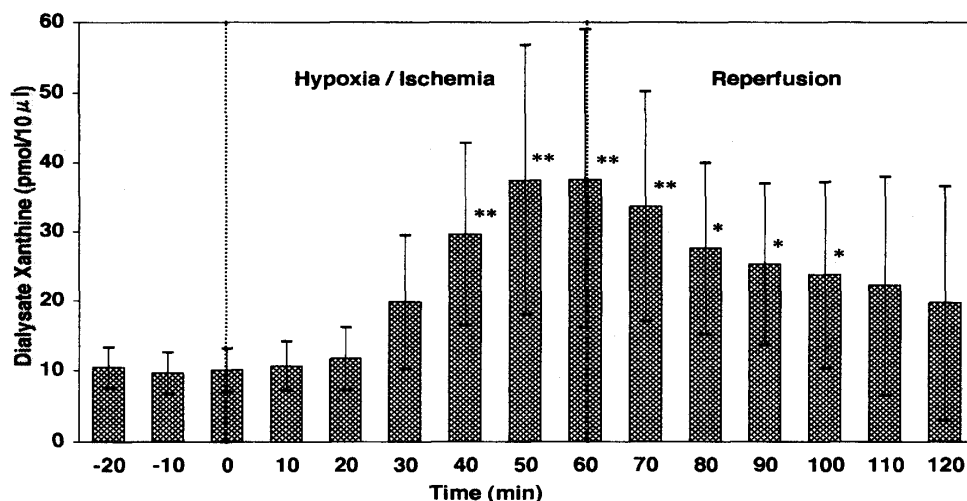


図6. 低酸素虚血負荷に対する線条体細胞外キサンチン濃度の変化
 数値は平均値±標準偏差にて示した。負荷開始時を基準値として比較した。
 * は $p<0.05$ を, $p<0.01$ を示す。

によって用いられている^{24, 25)}。一方, ラット新生仔を低酸素に曝すのみではその後の神経傷害を引き起こすことはできないことが病理学的に示されており²⁶⁾, 我々の以前の検討でも, 低酸素だけではむしろラット脳血流は増加することを報告している²⁷⁾。低酸素に虚血を加えることが重要であるものの, 虚血方法がRiceのような恒久的結紮では, 再灌流させることができないため, 我々は, 今回, 頸動脈の一過性クリッピングという新しい方法を開発した。ラットは左右大脳半球間の血管短絡路が存在し, 左頸動脈の片側クリッピングのみでは有意な虚血にはならない²⁸⁾。しかし, 我々のHIモデルでは, そこに低酸素負荷を加えることで, 負荷側において約50%まで脳血流量を減少させることができることが, Laser Doppler血流計により確認された。また, 再灌流により速やかに負荷前のレベルまで回復し, その後60分以内に再度漸減することが観察された。重度の虚血後には障害組織において, 血管内皮細胞の傷害や腫脹, 血管内凝固, 遊走した顆粒球の微細塞栓などが起こるため, 再灌流の防げが起こる¹⁾。麻酔及び侵襲による影響も考慮すべきことであるが, 我々のモデルに見られる再灌流時の血流量の低下にもこれらの因子が反映されているのかもしれない。虚血を伴わない低酸素下では, 新生豚の脳でアデノシンが低酸素下の血流維持に関与すると報告されている^{29, 30)}。低血糖時に脳血流が増加する機序にもアデノシンが関与する^{31, 32)}ことが示されており, 様々な状況下で, アデノシンは血管拡張という役割を果たしていると考えられている。我々のHIモデルで見たラット新生仔線条体細胞外のアデノシン濃度の変化は, 低

酸素虚血時に徐々に増加を示し, 負荷後半での血流量増加に関与していることをうかがわせ, 再灌流がなされてから徐々に減少に転じており, アデノシンが再灌流へ向けての血流維持に関与している可能性が示唆された。アデノシンは血流調節因子としてだけではなく, 神経伝達物質の一つとして虚血低酸素負荷に対して神経保護的に働くのか, それとも傷害増悪に働くのか, 議論のあるところである。アデノシンには興奮性神経伝達物質であるグルタミン酸の神経終末からの放出を抑制する作用があり, 内因性的アデノシンは脳保護に働くとの報告がある³³⁾。

一方, アデノシンの代謝産物であるプリン体類の虚血負荷における動態についての報告は, 心筋や大脳皮質では既にみられている^{17, 34)}。両者とも, 我々の結果同様に, 虚血によりアデノシン, イノシン, ヒポキサンチン, キサンチン全ての増加を認めている。ヒポキサンチン, キサンチンは, 虚血を伴わない低酸素負荷のみでも増加が見られるという報告もある^{35, 36)}。しかし, 我々のモデルのように, 虚血低酸素さらにその後の再灌流時まで含めて, 幼弱な脳内での動きを追跡した報告は未だみられていない。我々の検討では, 再灌流時には線条体において, アデノシン, イノシン, ヒポキサンチンは速やかに減少したのに対し, ヒポキサンチンのみはその60分後でも高値を維持し続けた。再灌流時にヒポキサンチンの濃度の高値が持続することは, 傷害組織内の血管内皮におけるキサンチン・オキシダーゼの活性化に伴い, ハイドロキシルラジカルやスーパーオキシドなど活性酸素の発生源となる可能性が十分に考えられる。Lubecら³⁷⁾は, 酸素投与

を受けた新生児ではよく多くの活性酸素の発生が見られると報告している。再灌流後にヒポキサンチン濃度の高値が線条体にて遷延することは、再び酸素が供給されることと相まって、活性酸素による神経障害の発生に関与するのかもしれない。

虚血低酸素負荷に対する新生仔ラットの線条体細胞外でのアデノシン濃度の上昇は、局所血流維持や神経興奮抑制を通じて傷害発生に保護的に作用することが期待できるが、その代謝過程で産生されるプリン体の濃度が再灌流時に高値を保っていたことは、活性酸素による傷害の惹起につながるおそれがある。キサンチンオキシダーゼ阻害剤などによるプリン体の産生抑制が、虚血低酸素による脳障害の抑制に有効かどうか、今後、このモデルを用いて、さらに検討したいと考えている。

謝 辞

今回の研究に対して、御指導、御助言いただき、本論文の御校閲をいただいた中村肇教授に深謝いたします。

文 献

- 1) Fellman, V., Raivio, K.O.: Reperfusion injury as the mechanism of brain damage after perinatal asphyxia. *Pediatr. Res.* 41: 599-606, 1997.
- 2) Vannucci, R.C.: Experimental biology of cerebral hypoxia-ischemia : relation to perinatal brain damage. *Pediatr. Res.* 27: 317-326, 1990.
- 3) Hudome, S., Palmer, C., Roberts, R.L., Mauger, D., Housman, C., Towfighi, J.: The role of neutrophils in the production of hypoxic-ischemic brain injury in the neonatal rat. *Pediatr. Res.* 41: 607-616, 1997.
- 4) Piantadosi, C.A.: Zhang, J.: Mitochondrial generation of reactive oxygen species after brain ischemia in the rat. *Stroke* 27: 327-332, 1996.
- 5) Zweier, J.L., Kuppusamy, P., Lutty, C.A.: Measurement of endothelial cell free radical generation: evidence for a central mechanism of free radical injury in postischemic tissues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 85: 4046-4050, 1988.
- 6) Berne, R.M., Blackmon, J.R., Gardner, T.H.: Hypoxia and coronary blood flow. *J. Clin. Invest.* 36: 1101-1106, 1957.
- 7) Berne, R.M., Rubio, R., Curnish, R.R.: Release of adenosine from ischemic brain. Effect on cerebral vascular resistance and incorporation into cerebral adenine nucleotides. *Circ. Res.* 35: 262-271, 1974.
- 8) Emerson, T. E., Jr., Raymond, R.M.: Involvement of adenosine in cerebral hypoxic hyperemia in the dog. *Am. J. Physiol.* 241: H134-H138, 1981.
- 9) Morii, S., Ngai, A.L., Ko, K.R., Winn, H.R.: Role of adenosine in regulation of cerebral blood flow : effect theophylline during normoxia and hypoxia. *Am. J. Physiol.* 253: H165-H175, 1987.
- 10) Pinard, E., Puiroud, S., Seylaz, J.: Role of adenosine in cerebral hypoxic hyperemia in the unanesthetized rabbit. *Brain Res.* 481: 124-130, 1989.
- 11) Haller, C., Kuschinsky, W.: Moderate hypoxia : reactivity of pial arteries and local effect of theophylline. *J. Appl. Physiol.* 63: 2208-2215, 1987.
- 12) Dirnagl, U., Niwa, K., Lindauer, U., Villringer, A.: Coupling of cerebral blood flow to neuronal activation : role of adenosine and nitric oxide. *Am. J. Physiol.* 267: H296-H301, 1994.
- 13) Nicholls, D.G. 神経伝達物質モノアミンとプリン, 神経情報伝達のメカニズム, 青島均訳, シュプリンガー・フェアラーク, 東京, P182-201, 1997.
- 14) Betz, A.L.: Identification of hypoxanthine transport and xanthine oxidase activity in brain capillaries. *J. Neurochem.* 44: 574-579, 1985.
- 15) Battelli, M. G., Corte, D.E., Stripe, F.: Xanthine oxidase type D (dehydrogenase) in the intestine and other organs of the rat. *Biochem. J.* 126: 747-749, 1972.
- 16) Lindsay, S., Liu, T.H., Xu, J., Marshall, P. A., Thompson, J. K., Parks, D. A., Freeman, B. A., Hsu, C. Y., Beckman, J. S.: Role of xanthine dehydrogenase and oxidase in focal cerebral ischemic injury

- to rat. *Am. J. Physiol.* 261 : H2051-H2057, 1991.
- 17) Mei, D.A., Gross, G.J., Nithipatikom, K.: Simultaneous determination of adenosine, inosine, hypoxanthine, xanthine, and uric acid in microdialysis samples using microbore column high-performance liquid chromatography with a diode array detector. *Anal. Biochem.* 238 : 34-39, 1996.
 - 18) Van Wylen, D.G.L., Schmit, T.J., Lasley, R.D., Gingell, R.L., Mentzer, R.M.: Cardiac microdialysis in isolated rat hearts: interstitial purine metabolites during ischemia. *Am. J. Physiol.* 262 : H1934-H1938, 1992.
 - 19) Delyani, J.A., Van Wylen, D.G.L.: Endocardial and epicardial interstitial purines and lactate during graded ischemia. *Am. J. Physiol.* 266 : H1019-H1026, 1994.
 - 20) Baranowski, R.L., Westenfelder, C.: Estimation of renal interstitial adenosine and purine metabolites by microdialysis. *Am. J. Physiol.* 267 : F174-F182, 1994.
 - 21) Konduri, G.C., Garcia, D.C., Kazzi, N.J., Shankaran, S.: Adenosine infusion improves oxygenation in term infants with respiratory failure. *Pediatrics* 97 : 295-300, 1996.
 - 22) Davil, J.L., Werck, M.C., Nehlig, A., Vasconcelos, P.: Quantitative autoradiographic study of the postnatal development of adenosine A₁ receptors and their coupling G proteins in the rat brain. *Neuroscience* 40 : 841-851, 1991.
 - 23) Rice, J.E., Vannucci, R.C., Brierley, J.B.: The influence of immaturity on hypoxic-ischemic brain damage in the rat. *Ann. Neurol.* 9 : 131-141, 1981.
 - 24) Vannucci, R.C.: Experimental models of perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *APMIS* 101 (Suppl 49) : 89-95, 1993.
 - 25) Hagberg, H., Bona, E., Gilland, E., Puka-Sundvall, M.: Hypoxia-ischaemia model in the 7-day-old rat: possibilities and shortcomings. *Acta. Pdiatr. Suppl.* 422 : 85-88, 1997.
 - 26) Mulsce, D.J., Christensen, M.A., Vannucci, R.C.: Cerebral blood flow and edema in perinatal hypoxic-ischemic brain damage. *Pediatr. Res.* 27 : 450-453, 1990.
 - 27) Ioroi, T., Yonetani, M., Nakamura, H.: Effect of hypoxia and reoxygenation on nitric oxide production and cerebral blood flow in developing rat striatum. *Pediatr. Res.* 43 : 733-737, 1998.
 - 28) Vannucci, R.C., Lyons, D.T., Vasta, F.: Regional cerebral blood flow during hypoxia-ischemia in immature rats. *Stroke* 19 : 245-250, 1988.
 - 29) Ruth, V.J., Park, T.S., Gonzales, E.R., Gidday, J.M.: Adenosine and cerebrovascular hyperemia during insulin-induced hypoglycemia in newborn piglet. *Am. J. Physiol.* 265 : H1762-H1768, 1993.
 - 30) Park, T.S., Van Wylen, D.G.L., Rubio, R., Berne, R.M.: Increased brain interstitial fluid adenosine concentration during hypoxia in newborn piglet. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 7 : 178-183, 1987.
 - 31) Park, T.S., Gidday J.M.: Effect of dipyridamole on cerebral extracellular adenosine level in vivo. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 10 : 424-427, 1990.
 - 32) Kim, Y.B., Gidday, J. M., Gonzales, E.R., Shah, A.R., Park, T.S.: Effect of hypoglycemia on postischemic cortical blood flow, hypercapnic reactivity, and interstitial adenosine concentration. *J. Neurosurg.* 81 : 877-884, 1994.
 - 33) Gidday, J.M., Fitzgibbons, J.C., Shah, A.R., Kraujalis M.J., Park, T.S.: Reduction in cerebral ischemic injury in the newborn rat by potentiation of endogenous adenosine. *Pediatr. Res.* 38 : 306-311, 1995.
 - 34) Slarphedinsson, J.O., Sandberg, M., Hagberg, H., Carlsson, S., Thor, P.: Relative cerebral ischemia in SHR due to hypotensive hemorrhage: cerebral function, blood flow and extracellular levels of lactate and purine catabolites. *J. Cereb. Blood Flow Metab.* 9 : 364-372, 1989.

- 35) Laudignon, N., Farri, Beharry, K., Rex, J., Aranda, J.V.: Influence of adenosine on cerebral blood flow during hypoxic hypoxia in the newborn piglet. *J. Appl. Physiol.* 68 : 1534-1541, 1990.
- 36) Kjellmer, I., Andin, P., Hagberg, H., Thiringer, K.: Extracellular increase of hypoxanthine and xanthine in the cortex and basal ganglia of fetal lambs during hypoxia-ischemia. *Brain Reserch* 478 : 241-247, 1989.
- 37) Lubec, G., Widness, J.A., Hayde, M., Menzel, D., Pollak, A.: Hydroxyl radical generation in oxygen-treated infants. *Pediatrics* 100 : 700-704, 1997.

Effects of Hypoxia/Ishemia and Reperfusion on
Regional Cerebral Blood Flow.
Extracellular Levels of Adenosine and Purine
Metabolites in Neonatal Rat Striatum

Osamu Miyake, Masahiko Yonetani

Department of Pediatrics, Kobe University School of Medicine
(Director : Hajime Nakamura)

ABSTRACT

We examined the effects of transient hypoxia/ischemia (HI) and subsequent reoxygenation/reperfusion on the alterations of the regional cerebral blood flow (rCBF) and the extracellular adenosine and purine metabolites in neonatal rat striatum. The rats were subjected to HI by clipping left common carotid artery using a microclip and inhalation of 8% O₂ for 60 minutes. Subsequent 60-minute reperfusion was introduced by unclamping the artery and exposure to 21% O₂. rCBF in the ipsilateral striatum decreased $48 \pm 22\%$ of baseline during HI, and recovered to the baseline level immediately after reperfusion. Then, it decreased gradually to $76 \pm 25\%$ of baseline during reperfusion. Extracellular adenosine level increased up to 790% of baseline during HI and reperfusion, and decreased gradually to the baseline levels after 60-minutes of reperfusion. The levels of inosine, hypoxanthine and xanthine gradually increased after the initiation of HI, and reached up to 1,621%, 5,059%, 3,718% of baseline, respectively. Although xanthine decreased rapidly at the reperfusion period, hypoxanthine sustained high level during 60-min of reperfusion. Increased interstitial adenosine level in neonatal striatum during HI and reperfusion might be effective to maintain rCBF and protective to brain injury. However, prolonged increase in hypoxanthine during reperfusion period may generate reactive oxygen species and exacerbate postischemic reperfusion cerebral injury.