

平成 29 年 5 月 30 日

## 腸における変化に富む電気活動の透析膜補強微小電極アレイ計測

名古屋大学大学院医学系研究科(研究科長 門松 健治)細胞生理学の中山 晋介(なかやま しんすけ)准教授のグループは、学生研究プロジェクト活動などを通じて、応用範囲の広い透析膜強化微小電極アレイ計測法を考案し、消化管における複合的電気活動の連携を時間空間的に解析することに成功しました(筆頭著者:岩田 尚子(いわた なおこ))。

腸は生体中に存在する極めて長い臓器で、食道、胃、小腸、結腸など各セクションにおける機能に対応して特徴的な運動をします。また、栄養素の消化吸收だけでなく、免疫、精神、微生物との共生など様々な生体機能との関連が、近年、注目されています。消化管壁での時間空間的な電気活動が運動性の基礎を成すと認識されていますが、実際には筋、神経、間質細胞群などが混在し多種多様な電気興奮がオーバーラップして複雑に働いているため、その解明には高精度の計測と解析方法の確立が必要と考えられます。しかしながら、一般的に使用されてきた光学的計測手法では、広帯域の生体信号記録は困難でした。

そこで本研究では、透析膜で標本をシート状態に補強する MEA 計測法を考案することで、いろいろな消化管部位において、特徴的な時間空間的電位変動を記録できることを示しました。空間的な電気計測条件が安定するため、胃、小腸、結腸において特徴的な自発性電位活動を長時間計測でき、時間空間的解析や視覚的な電位マッピング解析を可能としました。この技術により、よく把握されていなかった結腸の筋電気コンプレックス(myoelectric complex)各コンポーネント連携特性や、小腸の局所的神経活動が引き起こす電気緊張電位(電流)の伝搬の時間空間的な関係を描出することができました。このように、本研究成果である透析膜強化 MEA 計測法は汎用性が高く、今後、モデル動物の機能変化評価や薬物効果の判別など、様々な応用が考えられます。

本研究成果は、科学雑誌「Biosensors and Bioelectronics」(電子版)に掲載されました。

# 腸における変化に富む電気活動の透析膜補強微小電極アレイ計測

## ポイント

- 腸は極めて長い臓器であり、各部位で異なる電気的活動を発生するが、その時間空間的な連携性や基礎メカニズムには不明な点が多い。
- 透析膜補強微小電極アレイ法を開発することで、腸各所の機能的特徴を反映する多種多様の電気活動を微小領域において広帯域に検出し、詳細な時間空間解析を可能にした。
- これまで観察されることがない神経伝達に起因する電気緊張電位の伝搬や、複数の振動源が協調活動する結腸での筋電気コンプレックス等の代表的な計測・解析などを例示した。

## 1. 背景

腸は、生体中に存在する極めて長い臓器であり、食道、胃、小腸、結腸など各セクションにおける機能に対応して異なる運動様式を示しています。また、栄養素の消化吸収だけでなく、免疫、精神、微生物との共生など様々な生体機能と密接に関連しています。消化管壁での時間空間的電気変動は運動性の基礎と認識されていますが、実際には筋、神経、間質細胞群などが混在し、多様な電気興奮がオーバーラップして複雑に働いているため、高精度の計測と解析方法の確立が必要です。しかし、一般的に利用される光学的アプローチでは、高い空間分解能が得られるものの、電位感受性光学プローブの信号変化量が少ないうえに反応が遅延するので、速い電位変動など広汎な信号の記録が困難でした。

そこで、微小電極アレイ (MEA) 計測・解析方法の改良を考案しました。

## 2. 研究成果

透析膜で標本をシート状に補強する MEA 計測法を用いることで、いろいろな消化管部位において特徴的な時間空間的電位変動を記録できました (図 1)。透析膜下の消化管筋層標本は、ガス・イオン・栄養素などの低分子代謝産物が持続的に交換され、さらに筋層を介した感電極と参照電極間のアクセス抵抗 ( $R_a$ )、および感電極間の絶縁状態が安定しているために長時間の電気現象記が可能でした。

胃、小腸、結腸において特徴的な自発性電位活動を記録し、時間空間的解析や視覚的な電位画像解析を行いました (図 1 c)。1) 特に結腸では空間的電位分布特性がこれまでによく把握されていませんでしたが、透析膜補強 MEA 法により筋電気コンプレックス (myoelectric complex) : 徐振動 (slow oscillation) を先導する速振動 (rapid oscillations) と一過性スパイク (spike) 活動の関連が分かりました (図 3)。2) さらに小腸では、局所的神経活動が引き起こす電気緊張電位 (電流) の伝搬も観察されました (図 2)。

## 3. 今後の展開

本研究は、透析膜強化 MEA 法が、広い周波数帯にわたる時間空間的な生物電気活動を安定的に計測するための有用な技術ツールであることを示しました。すなわち、腸における興奮性接合部電位やスパイク電位から緩やかなペースメーカー振動まで検出することができました。

食物の運搬や攪拌などのために、消化管壁は協調的に運動する必要があります。近年、消化管の運動性が、脳腸相関や微生物の共生、免疫状態などを通じて、生体の健康へ密接に関連することが明らかとなってきています。一方、様々な食物中含有物や薬物、遺伝子変位によっても、消化管運動が影響されます。例えば、機能的腸疾患として知られる過敏性腸症候群では、これらの要因が複合的に影響して症状を引き起こすと考えられます。本研究で開発した技術が、このような健康・病態を評価するために、様々な興奮性組織における機能評価へ応用されることを期待しています。

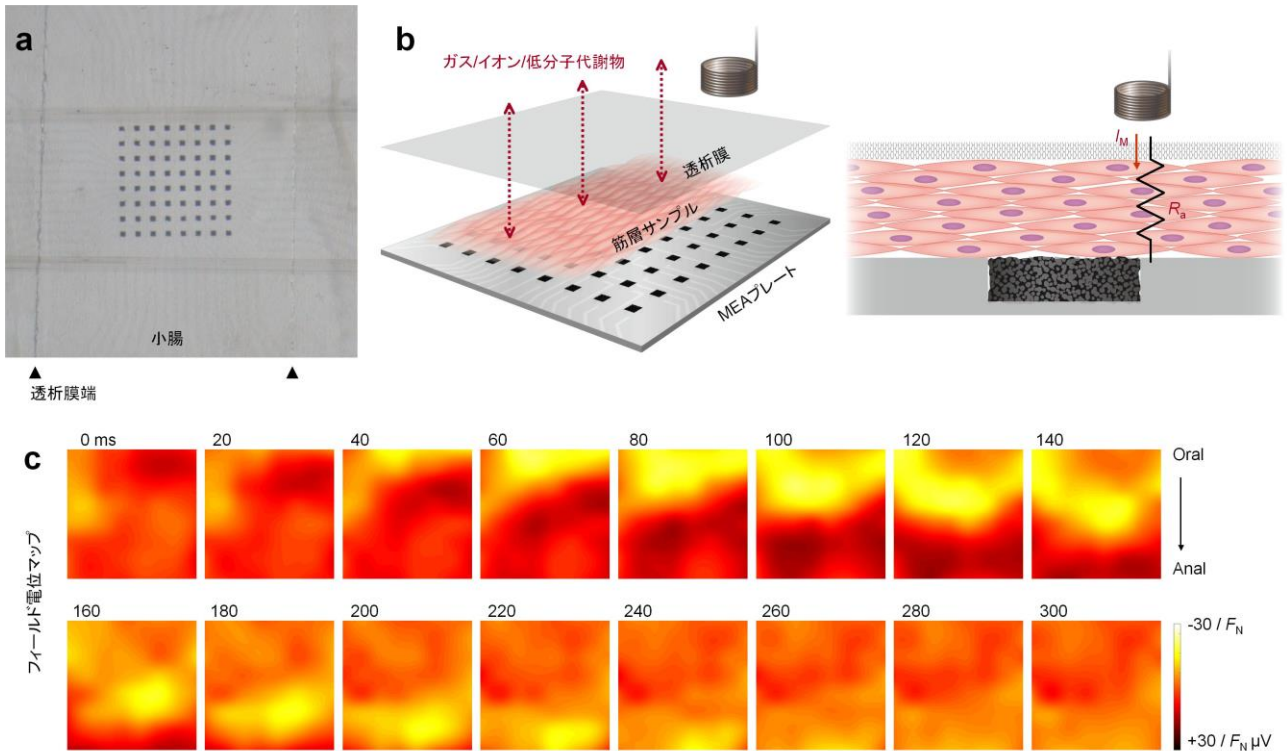


図1 透析膜補強微小電極アレイ (MEA) によるマウス小腸筋層の計測。(a,b)筋層シートは透析膜とMEAプレート間に固定される。(c) MEAデータのフィールド電位マッピングは、ペースメーカー活動の口側から肛門側への伝搬を描出する。 $I_M$ : 細胞膜電流。 $R_a$ : アクセス抵抗。

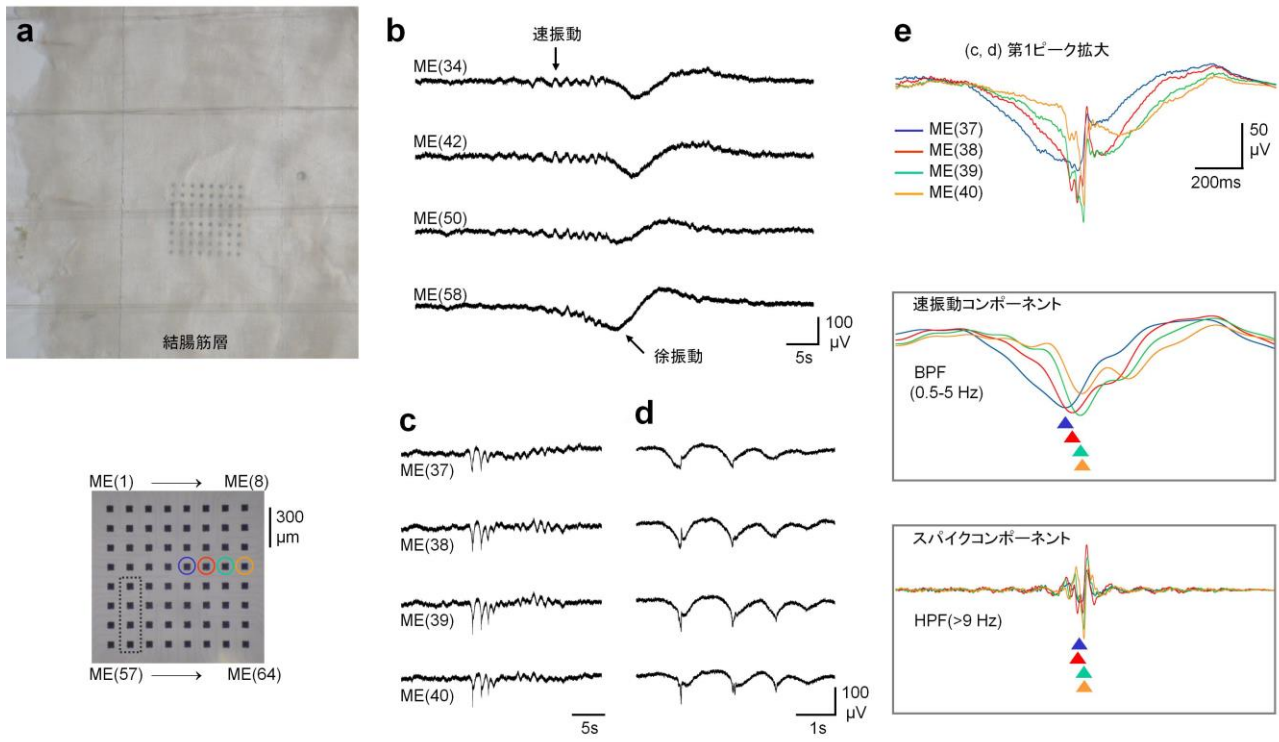


図2 結腸での筋電気コンプレックス(myoelectric complex)の計測例。(a) MEA上の結腸筋層標本写真。(b) 小さな振幅の速振動電位(rapid oscillating potentials)に先導される徐振動電位(slow oscillating potentials)のME(34,42,50,58)での同時記録。(c,d)速振動電位のME(37-40)での同時記録。(e) ME(37-42)での最初の速振動電位は、スパイク(spike)様電位がオーバーラップする(上パネル)。デジタルフィルタ処理による速振動コンポーネント(中)とスパイクコンポーネント(下)の分離。BPF: バンドパスフィルタ。HPF: ハイパスフィルタ。

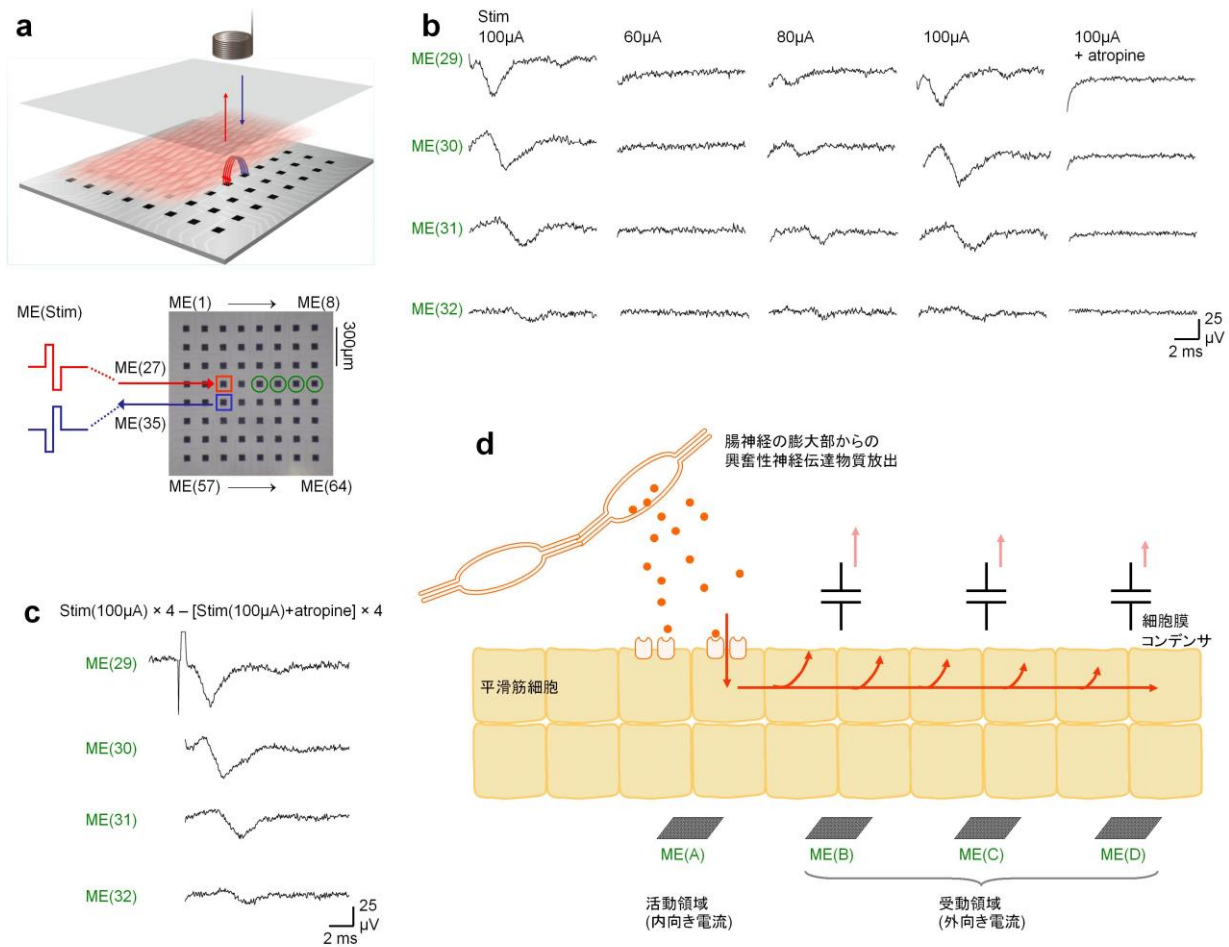


図3 電気刺激誘発電位の伝搬。(a) 標本(小腸)と刺激方法。電流は電極・ME(27, 35)に印可され、フィールド電位をその他の電極で測定した。(b) ME(29-32)の誘発電位。(c)  $\pm 100 \mu\text{A}$ での誘発電位のアベレージ。刺激電流サージは、ACh受容体阻害剤atropine存在下の電流除算により補正した。(d) 模式図: 神経筋接合部伝達による電気緊張電位の伝搬。興奮性神経伝達により発生したME(A)付近の内向き電流は細胞間を伝導し、隣接細胞の膜コンデンサをチャージする。かくしてMEs(B-D)は、外向き電流を検出する。Stim: 電気刺激パルス。

#### 4. 用語説明

結腸筋電気複合体 (colonic myoelectric complex) : 結腸では速振動や徐振動波が混合されたものが発生し、蠕動などの運動の引き起こす。

電気緊張電位 (electro-tonic potential) : 生理学においては、神経線維や機能的合胞体筋組織などの細胞内部を電荷が受動的に伝導することにより発生する電位。

#### 5. 発表雑誌

Naoko Iwata<sup>1</sup>, Takumi Fujimura<sup>2</sup>, Chiho Takai<sup>1</sup>, Kei Odani<sup>1</sup>, Kawano Shin<sup>1</sup>, Shinsuke Nakayama<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Cell Physiology, Nagoya University Graduate School of Medicine,

Nagoya 466-8550, Japan

<sup>2</sup>Department of Pediatric Surgery, Keio University School of Medicine, Tokyo 160-8582, Japan

" Dialysis membrane-enforced microelectrode array measurement of diverse gut electrical activity."

*Biosensors and Bioelectronics* (電子版に掲載)

DOI : <http://doi.org/10.1016/j.bios.2017.03.002>

**English ver.**

[https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical\\_E/research/pdf/Biosensors and Bioelectronics\\_20170530en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Biosensors_and_Bioelectronics_20170530en.pdf)