

マウス小腸微小領域でのペースメーカー電位協調：イメージ解析から立証された「腸の法則」に捉われない協調活動の分類

名古屋大学大学院医学系研究科(研究科長 門松 健治)細胞生理学の岩田 尚子(いわた なおこ)研究補助員、高井 千穂(たかい ちほ)研究補助員と中山 晋介(なかやま しんすけ)准教授のグループは、学生プロジェクトなどの研究を通じて(筆頭著者:森下 博隆(もりした ひろたか))、小腸微小領域における自発性ペースメーカー活動画像をパターン分類し、「腸の法則」に捉われない協調電気活動を実証しました。

消化管が機能的運動をするためには、微小領域の協調が必要です。医学生理学の教科書には、協調運動として、内在神経活動に由来する「腸の法則：内容物刺激により同時に惹起される口側の収縮と肛門側の弛緩」が記載されています。しかし、腸に含まれる神経以外の多種類の興奮性細胞群も共同で働くことで、実際の協調活動が演出される可能性があります。

そこで本研究では、透析膜補強微小電極アレイ(MEA)法(Iwata et al. 2017)を用いることで、典型的ペースメーカー活動を示すマウス小腸筋層の自発性電位をモデルとして計測し、微小領域の時間空間的連携活動をイメージ解析しました。その結果、ペースメーカー電位の連携活動は、以下の3つのパターンに大きく分類されました。1) bumpy パターンでは、電位活動の伝搬は距離的に限定されており、2) expanding パターンでは、小さな領域で発生した活動が周囲の微小領域に伝搬し、3) migrating パターンでは、長方形様の活動部位が長軸とおおよそ直角方向に進行しました。また、その連携活動は、長時間の観察では、サイクルごとになかなかの変動・ゆらぎが認められました。さらに、いくつかの migrating パターンを示す標本では、一過性の正電位領域に続いて、ペースメーカー電流の細胞内流入(負電位)領域が進行していることがはっきりと観察されました。これは、ペースメーカー活動が容積電伝体を形成して伝搬することを示しています。

このように、本研究成果の電位画像解析法は、興奮性細胞標本の高感度で精密な機能分析法として、薬剤や遺伝子改変動物研究などへの広い応用が考えられます。また、例示した解析画像は、「腸の法則」に捉われないペースメーカー連携活動を実証しています。

本研究成果は、医学雑誌「Gastroenterology」(2017年6月1日付けの電子版)に掲載されました。

マウス小腸微小領域でのペースメーカー電位協調：イメージ解析から立証された「腸の法則」に捉われない協調活動の分類

ポイント

- 透析膜補強微小電極アレイ法を利用し、マウス小腸のペースメーカー電位（基本電気活動）をイメージ解析したところ、Bumpy/localized, expanding, migrating という3つのパターンに分類できた。
- 長時間のイメージ解析により、ペースメーカー電位の伝搬には、かなり大きなゆらぎがあることが分かった。例えば、expanding パターンを示す標本では、発生位置が顕著に移動するものもあり、また migrating パターンを示す標本では、逆転現象も含む色々な方向への伝搬が観察された。
- イメージ解析によるペースメーカー電位の微小領域での連携性やその変動・ゆらぎの特性は、標本の性質や機能状態を評価するための高感度指標として利用できる可能性がある。いろいろな疾患のモデル動物や薬剤評価試験などへの応用が期待される。
- 医学・生理学の教科書には、「食物などによる消化管壁内部からの刺激により、口側の収縮と肛門側の弛緩がともに惹起される」ことが、内在神経支配による「腸の法則」として記載されるが、一方、そのような「典型的反応は限られた条件下でしか起こらない」という報告もある。本イメージ解析研究は、内在するペースメーカー細胞群が、「腸管の法則」に捉われない自由な自発性電位連携を創り出すことを立証した。

1. 背景

蠕動や分節運動など、消化管が機能的な運動を発揮するためには、微小領域の協調活動が要求されます。医学・生理学の教科書には、生理学における初期の研究に基づき、内在神経活動に由来する「腸の法則」として「食物などによる消化管壁内部からの刺激により、口側の収縮と肛門側の弛緩がともに惹起される」と記載されています。しかしながら、そのような「典型的反応は限られた条件下でしか起こらない」という報告もあり、神経以外の多種の興奮性細胞群も、実際には消化管の協調的活動に大いに働く可能性があります。ネットワーク状に分布するペースメーカー細胞群は、その有力な候補です。

2. 研究成果

そこで本研究では、透析膜補強微小電極アレイ (MEA) 法 (Iwata et al. 2017) を用いて、典型的ペースメーカー活動を示すマウス小腸筋層の自発性電位を記録し、微小領域の時間空間的連携活動をイメージ解析しました。

ペースメーカー電位の微小領域での連携活動は、大別して、bumpy, expanding, migrating という3つのパターンに試験的に分類することができました (図1)。1) bumpy パターンでは、電位活動の伝搬は距離的に限定されており、電氣的連結が乏しく同調性が減弱していることが示唆されました。2) expanding パターンでは、小さな領域で発生した活動が周囲の微小領域に伝搬し、長時間活動を継続していました。3) migrating パターンでは、長方形様の活動部位が長軸とおよそ直交方向に進行していきました。

ペースメーカー電位の連携活動は、サイクルごとに変動・ゆらぎがありました。例えば、

ある標本では、サイクルごとに異なる微小位置から発生する expanding パターンが観察されました。またある別の migrating パターンの標本では、口側・肛門側が逆転することも含め、いろいろな方向への電位活動の進行が観察されました。また、いくつかの migrating パターンの標本では、明るく表示された活動（負電位）領域の進行の前に、先導する暗い（一過性の正電位）領域がありました。これらは、それぞれペースメーカー電流のソースとシンク領域であり、後者では細胞間を伝搬したペースメーカー電流が細胞膜をチャージしています（図2）。ペースメーカー活動は、電流ソースとシンク複合体が一体となり容積伝導体として進行すると考えられます。

3. 今後の展開

本研究では、小腸ペースメーカー電位の微小領域での時間空間的連携活動をイメージ解析することで、試験的に3つのパターンに分類することができました。これらのパターンは、例えば、静止状態、すりつぶし、及び推進様の運動に対応すると推測されます。今後の研究を通じて、対応する機能の解明が期待されます。また、migrating パターンで見られるように、ペースメーカー電流発生（ソース）領域が移動するときには電流流入（シンク）領域が先導するという特徴もあるので、これら領域の形状・存在時間を総合的に評価することで、さらに詳細にパターン分類できる可能性があります。この電位イメージ解析法は、自動技術なども組み込むことで、生体標本の高感度・精密な機能分析法として、薬剤効果判定や疾患モデル動物研究へも応用が広がると考えられます。

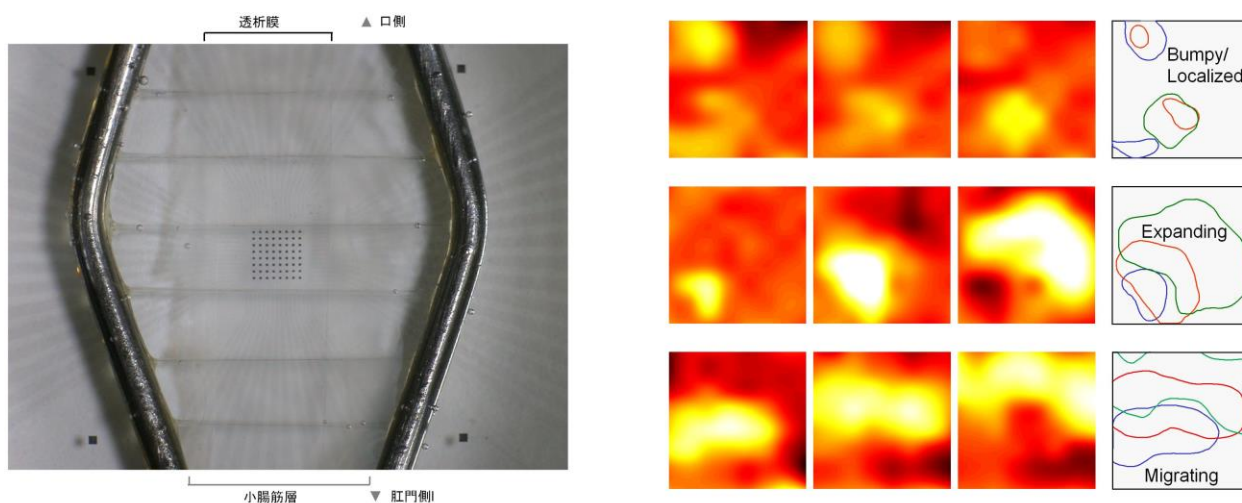


図1 マッピング解析によるペースメーカー電位微小領域連携の解明。
 (左): 透析膜補強微小電極アレイ(MEA)法をもちいた小腸筋層微小(1 × 1 mm²)領域での8 × 8フィールド電位記録。
 (右): 3分類される微小領域連携パターン: 凸凹/局在(bumpy/localized)、拡大(expanding)と、移動(migrating)。2値化された電位画像のアウトライン

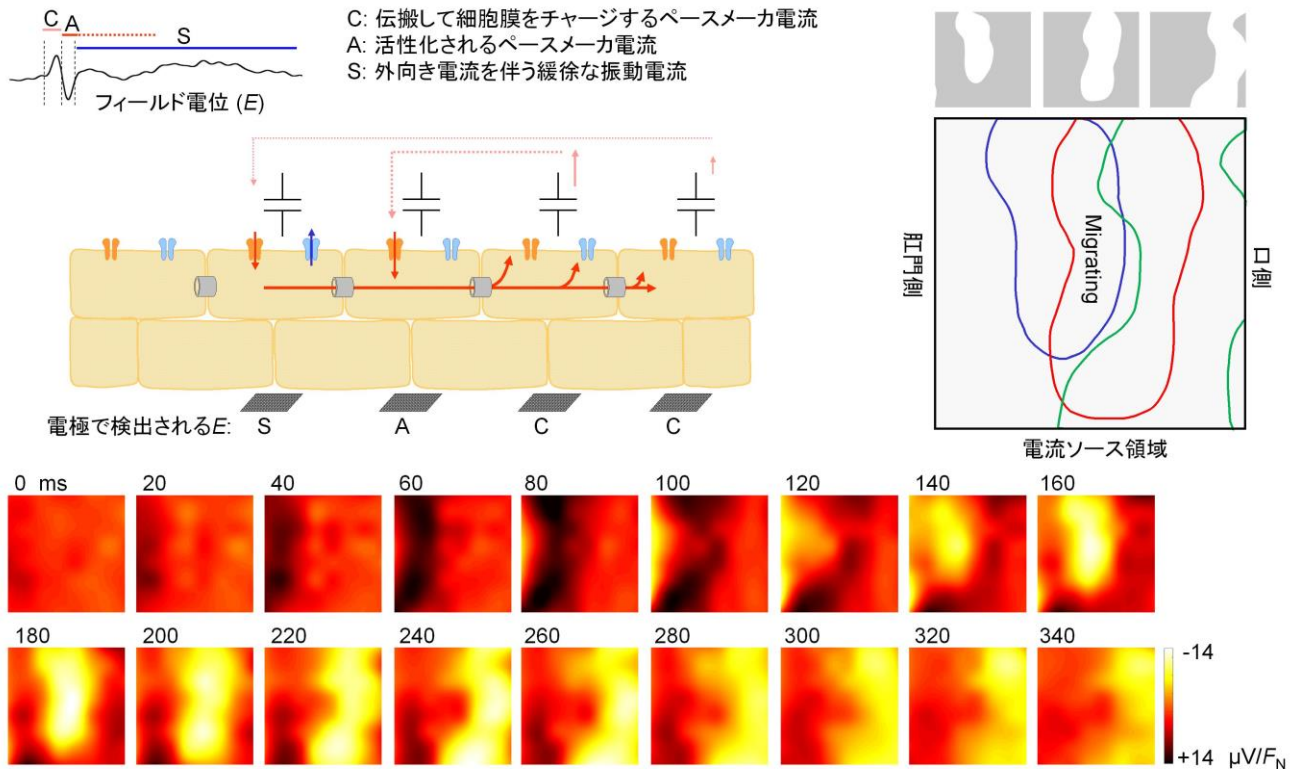


図2 腸のペースメーカ電位伝搬様式。(左上): フィールド電位(E)変化と伝搬メカニズムの模式図。(下): 移動(migrating)パターンをとるペースメーカ電位のマッピング表示。暗く表示されるシンク領域が電流ソース領域を先導する。(右上): 2値化された電流ソース領域移動の時間経過 (160, 200, 240 ms)。 F_N : 各電極の標準化係数。

4. 用語説明

腸の法則 (the ‘law of the intestine’): 20世紀初頭に Bayliss と Starling (Journal of Physiology 24, 99–143 1899; Journal of Physiology 26, 107–118, 1900)によって提唱された腸の運動法則。腸の内容物刺激により口側が収縮し、同時に肛門側が弛緩することで内容物が運搬される。内在神経反射に依るとされる。

フィールド電位 (field potential): 電場電位。神経・筋組織などにおいては、とくに局所局所の細胞外電流が、伝導体となる細胞外スペースを容積伝導 (volume conduction)する総和として形成される。

5. 発表雑誌

Hirota Morishita¹, Naoko Iwata¹, Chiho Takai¹, Naoto Mochizuki¹, Noriyuki Kaji², Masatoshi Hori², Shunichi Kajioka³, Shinsuke Nakayama¹

¹Department of Cell Physiology, Graduate School of Medicine, Nagoya University

²Department of Veterinary Pharmacology, Graduate School of Agriculture and Life Sciences, The University of Tokyo

³Department of Applied Urology and Molecular Medicine, Graduate School of Medicine, Kyushu University

" Micro-coordination of pacemaker potentials in the intestine of the mouse "
Gastroenterology (2017 年 6 月 1 日付けの電子版に掲載)

DOI : <http://dx.doi.org/10.1053/j.gastro.2017.04.016>

English ver.

<https://www.med.nagoya->

[u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Gastroenterology_20170605en.pdf](https://www.med.nagoya-u.ac.jp/medical_E/research/pdf/Gastroenterology_20170605en.pdf)