

マイクロパターン表面を用いた培養神経回路の構造-機能制御

Effect of network modularity on spontaneous activity patterns of cultured neuronal networks

山本英明¹, 石原広識², 河野翔², 千田雄大³, 松村亮祐⁴, 平野愛弓⁴, 久保田繁⁵, 谷井孝至², 庭野道夫³

(1.東北大学際研, 2.早大理工, 3.東北大通研, 4.東北大医工, 5.山形大理工)

^aH. Yamamoto^a, K. Ishihara^b, S. Kono^b, Y. Chida^a, R. Matsumura^a, A. Hirano-Iwata^a, S. Kubota^c, T. Tani^b, M. Niwano^a

(^aTohoku University, ^bWaseda University, ^cYamagata University)

*E-mail: h-yamamoto@bme.tohoku.ac.jp

【背景・目的】生体神経回路は、例えば大脳皮質のマイクロカラムに代表されるような、数十～数百個の細胞からなるモジュールが統合されたシステムである[1]。その機能素子である神経細胞は、一度単一細胞ごとに分散させても、培養系において生体内と同様に突起を伸長させ、シナプス結合をつくり、回路を形成する。しかし培養系では細胞間がランダムに接続されるため、回路としての活動パターンは脳神経回路とは大きく異なる。例えば自発活動をとっても、生体神経回路では細胞間が緩やかに相関しているのに対して、培養神経回路では回路全体が強く同期した活動が見られる。そこで私たちは、半導体微細加工技術を応用して培養神経回路の接続構造にモジュール性を持たせ、この構造制御が回路機能に及ぼす影響を調べた。確率共鳴による微弱信号検出や将来の入力への期待を表現するための内部モデルの生成など[2]、脳情報処理において主要な役割を担う自発的神経活動に着目して回路機能を評価した。

【実験方法】ガラス基板の上に電子線リソグラフィによりポリリジン(細胞接着可能領域)とポリエチレングリコール(接着阻害領域)をパターンニングした[3-5]。この基板の上にラット胎児大脳皮質神経細胞を播種し、ポリリジン領域に神経回路を構築した。培養開始から10日目において、蛍光色素 Fluo-4 を用いて Ca イメージング法により神経回路の自発活動を計測した。

【結果と考察】大きさ $200 \times 200 \mu\text{m}^2$ の正方形パターンを1つの回路モジュールに見立てて、4つのモジュールからなる回路を作製した。1つのモジュールには約20個の神経細胞が含まれており、その内部では細胞間がランダムに結合している。モジュール間接続の接続が存在しない場合には、それぞれのモジュールは独立して発火した。一方モジュール間を3本の細線(幅 $4 \mu\text{m}$)で接続した場合には、パターンニングを施していない場合と同様に、4つのモジュール全体が強く同期した。その中間状態として、接続本数を1本に減らしたモジュール型回路を作製したところ、全体同期と部分同期とが入り交じった、複雑なダイナミクスが観測された(図1)。これは、モジュール性という接続構造が、緩やかな相関性に特徴づけられる生体神経回路様の自発活動パターンを生成するための十分条件であることを示している。また今回得られた一連の結果は、表面工学に基づく細胞操作技術によって、培養神経回路の機能が外因的に制御できることを示している。

【参考文献】: [1] D. Meunier *et al.*, Front. Neurosci. 4, 200 (2010). [2] P. Berkes *et al.*, Science 331, 83 (2011). [3] H. Yamamoto *et al.*, Appl. Phys. Lett. 99, 163701 (2011). [4] H. Yamamoto *et al.*, J. Neurochem. 123, 904 (2012). [5] H. Yamamoto *et al.*, Biofabrication 6, 035021 (2014).

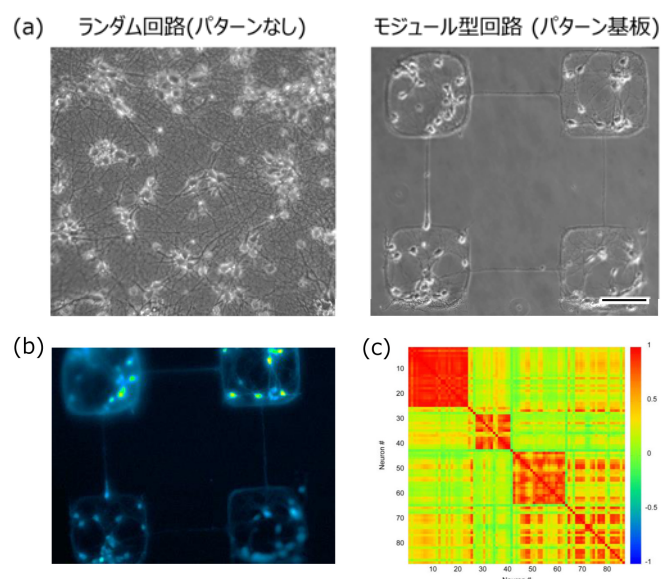


図1. (a) 通常の培養神経回路(左)とパターン基板上に形成したモジュール型回路(右). スケールバー: $100 \mu\text{m}$. (b) モジュール型回路の蛍光 Ca イメージング. (c) モジュール型回路における神経活動の相関性解析.