階層的モジュール構造を有する培養神経回路の in vitro 再構成

In vitro reconstruction of cultured neuronal networks with hierarchical modularity

東北大通研 [1]，東北大学 AIMR[2]，山形大理工 [3]
°井手克哉 [1]，山本英明 [2]，脇村桂 [1]，守谷哲 [1]，袁之雄 [1]，
久保田繁 [3]，佐藤茂雄 [1]，平野愛弓 [2,1]
Tohoku Univ. [*], Yamagata Univ. [**]
°K. Ide [*], H. Yamamoto [*], K. Wakimura [*], S. Moriya [*], Z. Chen [*], S. Kubota [**], S. Sato [*], A. Hirano-Iwata [*]
E-mail: katsuya.ide.p4@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】神経細胞の分散培養系は，脳科学の基礎研究や新薬候補化合物のスクリーニングなどにおいて重要な役割を担っている．しかしながら，培養神経回路と生体神経回路(脳)は細胞間接続構造の差異により異なったダイナミクスを示す．これまで我々は，表面微細加工技術を応用することで生体神経回路を特徴付ける「モジュール構造」を有する培養神経回路を作製し，モジュール性の度合いの高い回路を作製することで機能的に生体神経回路に近づけることができることを示してきた[1]．今回我々は，生体神経回路も有するとされるモジュール構造の「階層性[2]」に着目し，よりモジュール性の度合いの高い新たなパターン回路を作製した．今回，階層構造と対比的な構造である格子構造と比較することで，階層的モジュール構造の自発活動パターンに与える影響を調べた．

【実験方法】マイクロコンタクトプリンティング法によりガラス基板上に poly-D-lysine と細胞外基質ゲルをパターニングすることで, 細胞パターニングのためのテンプレート基板を作製した[3]. これまで用いてきた 200um 四方の正方形モジュール 4 つを 10um 幅の直線で結んだパターンに加え, 分割数を 16 に増やして階層的に接続したパターンと格子状に接続したパターンの 2 種類を新たに作製した(図 1a,c)．パターニングした基板上に胎生 18 日ラット大脳皮質から摘出した神経細胞を播種し, 培養 10 日目に構築された神経回路の自発活動を蛍光 Ca イメージング法で計測した．

【結果と考察】格子接続回路は，全てにおいて培養神経回路に特徴的な回路全体での同期活動を見せた一方で，接続構造を生体系ネットワークに近づけた階層接続回路では，全体同期と部分同期が混ざった複雑な発火パターンが見られた。相関係数を用いて両者の同期性を評価したところ，格子接続では，平均値は 0.95 であったのに対し，階層接続では，0.66 であった．この結果階層的モジュール性を制御することによって，生体系に近いダイナミクスを発現する神経細胞ネットワークを分散培養系で再構成できることを示唆している．

本研究は，科研費・基盤研究(B)ならびに JST-CREST の助成を受けて実施された．

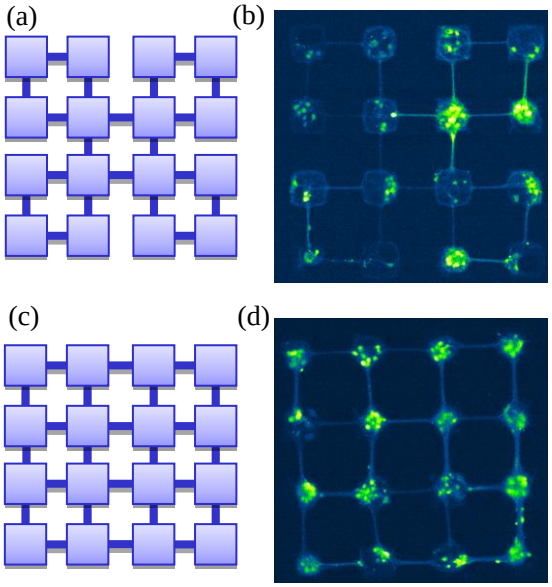

図 1：階層接続パターン(a,b)と格子接続パターン(c,d)の模式図(a,c)と培養 10 日目における神経細胞回路の自発活動(b,d)

[1] 井手他， 第 78 回応用物理学会秋季学術講演会, 5a-A502-3(2017)
[2] Meunier et al., Front. Neuroscience., vol.4, article 200(2010).
[3] Yamamoto et al., Appl. Phys. Lett.109, 043703 (2016)