生体脳組織の弾性率を模倣した超軟シリコーン樹脂上での神経細胞培養

Culturing primary neurons on an ultrasoft silicone gel with biomimetic stiffness

東北大通研 [1]，東北大 AIMR[2]　○住 拓磨 [1]，山本 英明 [2]，平野 愛弓 [1,2]

Tohoku Univ. [1], ○Takuma Sumi[1], Hideaki Yamamoto[1], Ayumi Hirano-Iwata[1]

E-mail: takuma.sumi.s8@dc.tohoku.ac.jp

【背景・目的】脳機能の基礎研究や新薬候補化合物のスクリーニングにおいて，培養細胞を用いた生体機能モデリングは重要な役割を担う．しかし，汎用的なガラス基板上で培養した神経ネットワークは，生体系と比べ，過剰に同期した発火パターンを示す．この原因の 1 つに，培養系ではシナプス強度が強くなってしまうことが挙げられる[1][2]．近年，細胞の力覚特性性が調べられ，足場材料の硬さが神経細胞の軸索や樹状突起の成長に影響を与えることが報告された[3][4]．これは特に足場材料の弾性率が生体脳の値に近くなったときに大きな差が見られている[4]．軸索や樹状突起は神経細胞では入出力端子の役割を担うため，足場材料の硬さはシナプス強度や神経ネットワーク活動にも影響を及ぼし得ると考えられる．そこで我々は今回，脳の弾性率を模倣した超軟シリコーン上でラット大脳皮質神経細胞を培養する手法を確立し，patch clamp 法および Ca イメージングにより神経活動を記録，解析したので，その結果を報告する．

【実験方法】弾性率が生体脳(E～0.5 kPa)とほぼ等しい超軟シリコーン樹脂，および弾性率がその約 30 倍のシリコーン樹脂を用いて，基板を作製した．これらの基板をポリリシンコートした後に，胎生 18 日ラット大脳皮質から摘出した初代神経細胞を播種し，培養 14～18 日目に Ca イメージングにより神経細胞ネットワークの自発活動パターンを観察した．また，whole-cell patch clamp 法により，興奮性シナプス後電流(EPSC)を計測した．また，本実験ではコントロールとしてガラス基板上の細胞の計測も行なった．

【結果と考察】2 種類のシリコーン基板およびガラス基板上で培養した神経細胞の自発活動電流から，シリコーン樹脂上では，ガラス基板と比べ，EPSC の振幅と頻度が下がることがわかった．特に，生体脳の弾性率を模倣した超軟シリコーン基板ではさらに振幅が下がり (図 2)，ガラス基板上の培養で見られた過剰なシナプス強度が抑制された．また，Ca イメージングで神経ネットワーク活動を観察し解析した結果，超軟シリコーン基板では細胞間の平均相関係数を 0.91 (ガラス基板)から 0.82 (超軟シリコーン基板)まで減少させることができた．超軟シリコーン培養においてもまだ，生体大脳皮質の発火パターンとは隔たりがあるが，今後，例えば細胞パターニングとの融合により，このギャップをさらに埋めていくことができると考えている．本研究は，科研費・基盤研究(B)、JST さきがけ、ならびに JST-CREST の助成を受けて実施された．

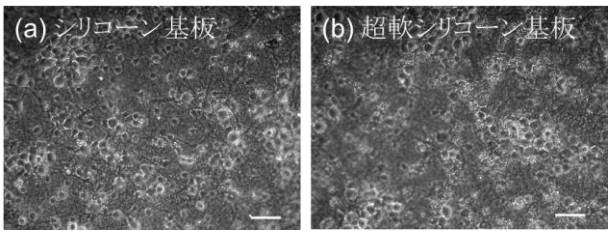

図 1：各基板上の神経細胞の形態 (Scale bars, 50 μm.)

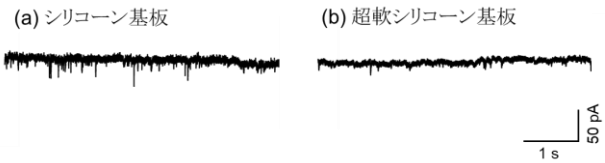

図 2：各基板上の神経細胞の自発活動電流

[1] S. Song, P.J. *et. al.*: PLoS Biol. **3**, e68 (2005). [2] H. Yamamoto *et. al.*: Appl. Phys. Lett. **109**, 043703 (2016). [3] Koser D. E. *et. al.*: Nat. Neurosci. **19**, 1592-1598 (2016). [4] A. Tanaka *et. al.*: PLoS One **13**, e0191928 (2018).

© 2019年 応用物理学会