マイクロパターン上の神経回路における標的ニューロンへの二本針電極を用いた選択的刺激

Selective stimulation of a target neuron in micropatterned neuronal circuits using a pair of needle electrodes

早大理工[1]，東北大通研[2]，東北大 AIMR[3]
○小熊 奏一郎[1]，服部 晃平[1]，鞍掛 碧流[1]，今井 絢子[1]，石田 実穂子[1]，
髙橋 穂乃歌[1]，山本 英明[2]，平野 愛弓[2,3]，谷井 孝至[1]
Waseda Univ.[1], Tohoku Univ. RIEC[2], Tohoku Univ. AIMR[3]
○Soichiro Oguma[1], Kouhei Hattori[1], Hekiru Kurakake[1], Junko Imai[1], Mihoko Ishida[1], Honoka Takahashi[1], Hideaki Yamamoto[2], Ayumi Hirano-Iwata[2,3], Takashi Tanii[1]
E-mail: oguma@tanii.nano.waseda.ac.jp

【研究背景】単一の標的ニューロンへの刺激は神経細胞回路の機能制御に必須な技術である。単一ニューロンの発火が神経ネットワークの活動状態や動物の行動パターンに影響を与えることが報告されている[1,2]一方で，現在の神経刺激手法は，照準の精度，時間分解能，および非侵襲性の面でトレードオフを抱えており，単一の標的ニューロンへの刺激と活動計測を長期間行うことを困難にしている。前回の報告では，二本針電極を用いた刺激手法がマイクロパターン上の神経細胞を非接触的に刺激できること[3]に加えて，アノードとカソードを共に標的ニューロン近傍に配置することが刺激の選択性の向上に寄与していることをシミュレーションで示した[4]。今回，刺激選択性が高くなると予想される電極配置によって，単一の神経細胞を選択的に刺激できることが実験的に明らかになったため報告する。

【実験方法】フォトリソグラフィを用いてガラス基板上に細胞接着領域と非接着領域からなるマイクロパターンを作製し，円形パターン内でラット大脳皮質神経細胞を 12 日間培養した。先端部のみが露出するように絶縁コーティングした 2 本のタングステン電極を標的ニューロンに接近させ，電極間に双極性の方形波電圧パルスを印加した。このときの神経細胞活動の蛍光応答を Ca イメージングで可視化した。

【実験結果】標的および非標的ニューロンの蛍光強度の時間変化を Fig. 1 に示す。各実験では 1 $V_{p\text{-}p}$～9 $V_{p\text{-}p}$ の電圧パルスが 1 V 間隔で印加された。Cell1 を標的ニューロンとし，二本針電極を接近させて刺激すると，8 $V_{p\text{-}p}$ 以上の電圧パルス印加によって発火した。この時，非標的ニューロンである Cell2 はいかなる電圧振幅でも発火せず，Cell2 を標的ニューロンとした場合には，Cell2 のみが発火した。この結果は，二本針電極を用いた電気刺激手法が単一神経細胞を選択的に刺激できることを示しており，局所神経回路の活動パターン解析に有用であることを示唆する。

なお，本研究は科研費（18H03325, 20K19925）の助成を受けている。

[1] C. T. Li, *et al., Science* **324** (2009) 643.
[2] A. R. Houweling & M. Brecht, *Nat Lett.* **451** (2008) 65.
[3] H. Kurakake, *et al.,* The 67th JSAP Spring Meeting 2020, PA7-1
[4] K. Hattori, *et al.,* The 67th JSAP Spring Meeting 2020, A408-1

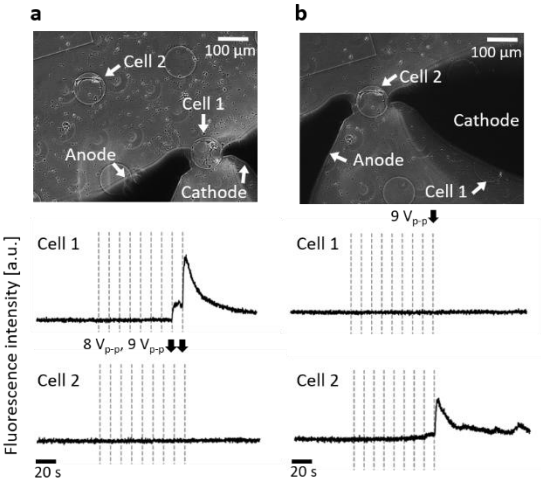

Figure 1: Selective stimulation of a target neuron. In (a), cell1 is the target neuron, and in (b), cell2 is the target neuron.The dotted line shows the stimulation timing.