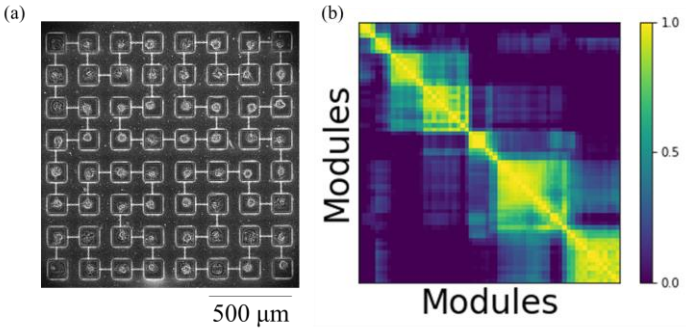
大規模モジュール構造型培養神経回路の作製と自発活動の解析
Fabrication and spontaneous activity analysis of large-scale modular neuronal networks

東北大通研 [1]　東北大工 [2]　東北大院工 [3]　東北大院医工 [4]　東北大 AIMR[5]
○伊藤亘輝 [1,2]，山本英明 [1-3]，住拓磨 [1,4]，室田白馬 [1,3]，門間信明 [1,3]，佐藤茂雄 [1-3]，平野愛弓 [1-5]
RIEC[1]，Sch. Eng.[2], Grad. Sch. Eng.[3], Grad. Sch. Biomed. Eng.[4], and AIMR[5], Tohoku Univ.
○K. Ito[1,2], H. Yamamoto[1-3], T. Sumi[1,4], H. Murota[1,3], N. Monma[1,3], S. Sato[1-3], A. Hirano-Iwata[1-5]
E-mail: koki.ito.r3@dc.tohoku.ac.jp

［背景・目的］ 神経細胞ネットワークの性質を調べる方法として培養神経細胞を用いた生体機能モデリングがある．我々は，マイクロ加工技術を用いて，生物の脳神経系で普遍的に見られるモジュール構造を有する培養神経回路を構築し，モジュール性の高い回路では，培養神経回路で見られる過剰な同期発火が抑制されることを明らかにしてきた[1]．しかし，これまでに構築した小規模な回路(モジュール数: 4 個)では大脳皮質などで観察される発火パターンと比べ，同期性が依然として強く，発火パターンの複雑性は低かった．そこで，本研究では同期性をさらに抑え，同期状態と非同期状態がより複雑に入り混じった発火パターンを示す培養神経回路の構築を目的として，64 個のモジュールからなる大規模なモジュール構造型培養神経回路を作製し，その自発活動を蛍光 Ca イメージング法により計測して解析したのでその結果を報告する．

［実験方法］ Polydimethylsiloxane 製のマイクロ流路をレプリカモールディング法により作成した[2]．マイクロ流路の構造は 100 × 100 μm^2 の正方形 64 個を，空間充填曲線であるヒルベルト曲線となるよう直線流路で接続した[図(a)]．ヒルベルト曲線は開ループな構造を持つので，神経細胞間の同期性を抑制できることが期待される．このマイクロ流路をポリリジン修飾したガラス基板に貼り付け，その上に胎生 18 日ラット大脳皮質から採取した神経細胞を播種した．培養 19 日から 21 日目において蛍光 Ca イメージング法により自発活動を計測した．

［結果と考察］ 小規模回路の同期発火では神経活動が数十~100 ms 程度の時間でネットワーク全体に伝搬するが，大規模回路ではネットワーク全体に広がるような同期発火は見られず，また数 s 程度をかけてゆっくりと伝搬する活動も多く見られた．神経細胞間の活動の相関性を解析したところ，大規模回路では同期性の強い部分集団が 1 つのネットワークの中に複数個，階層的に形成され，ネットワーク全体としては同期性が弱まっていることが分かった[図(b)]．これまでに，モジュール内で神経活動は 1 ms 以内に伝わるが，モジュール間を伝搬する際には数十 ms の遅延が生じることが報告されている[3]．今回作製した 64 モジュールの大規模培養神経回路では，モジュールをまたぐ活動伝搬の回数が増加することから発火のタイミングの時間差が大きくなり，同期状態と非同期状態が複雑に入り混じった発火パターンをもつ培養神経回路の構築ができたと考えられる．発表では，光刺激入力応答実験についても報告する予定である．



図(a):64 モジュール構造型神経回路の形状
図(b):相関係数行列(64 モジュール)

[1] Yamamoto et al., Sci. Adv. 4, eaau4914 (2018). [2] Takemuro et al., Jpn. J. Appl. Phys. 59, 117001 (2020). [3] Sato et al., Front. Neurosci. 16, 943310 (2023).

本研究は，文部科学省学術変革領域研究(B)「脳神経マルチセルラバイオコンピューティング」，日本学術振興会科研費，JST さきがけ，JST-CREST，東北大学電気通信研究所共同プロジェクト研究の助成を受けて実施された．