

共同研究報告書

京都大学再生医科学研究所長 殿

研究代表者（申請者）

所属：NTT 物性科学基礎研究所

職名：主席研究員

氏名：鳥光 慶一

下記のとおり共同研究課題の実施結果について報告します。

記

1. 研究課題：

マシン-ブレインインターフェースを活用した神経ネットワークの構築

2. 再生医科学研究所共同研究者：

岩田 博夫 教授

加藤 功一 准教授

3. 研究期間： 短期研究課題 ・ 長期研究課題

(平成22年4月1日～平成23年3月31日)

4. 研究経過及び研究成果：

本研究では、胚性神経幹細胞の成長および分化に伴う電気的変化および活動制御を目的に研究を進めた。

研究を開始するにあたり、NTT 物性科学基礎研究所においては、今まで胚性神経幹細胞の取り扱いがなかったため、その安定的維持および生育を図るため京大再生研岩田教授の研究室で確立している神経幹細胞維持生育技術を習得するところからスタートした。これは、電気計測については、NTT 物性科学基礎研究所において実施するため、細胞の取り扱いに慣れておく必要があったためである。

当初、神経幹細胞については、保存冷凍細胞を解凍して生育したが、本共同研究中にラット胚からの神経幹細胞調整法を習得することでオンサイトでの維持管理が可能となった（図1）。

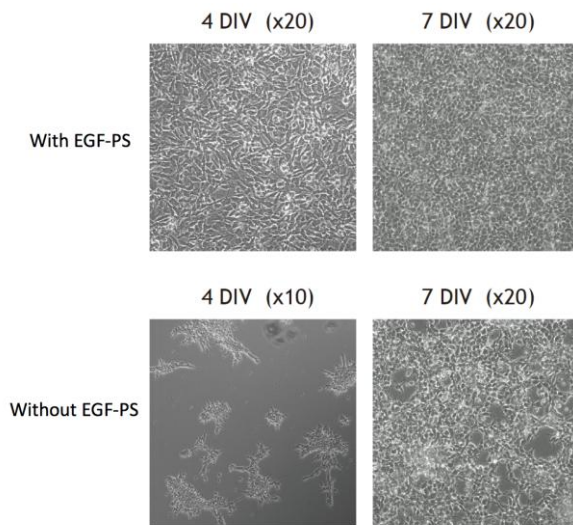


図1 神経幹細胞培養

一方、電極については、半導体微細加工技術により導電性のITO膜をベースにした多点微小電極アレイを作製した。本電極アレイは、大きさ $20\text{-}50\mu\text{m}$ の64極の電極からなる基板（ガラス基板）であり、表面を絶縁膜で保護してある。各電極は、導電性の高分子ゲルであるPEDOT-PSSを電解重合してあり、これにより数 $\text{k}\Omega$ 〜数十 $\text{k}\Omega$ 程度までインピーダンスを低減させることが可能となっている。

本研究では、以上の様に作製した電極基板上にラットE15胚から調整した神経幹細胞を成長させ、成長および分化に伴う電気的变化を調べた。測定にあたり、細胞の順調な生育は必須である。電極基板は今までの経験で、神経細胞にとって生体適合性が高いものの、神経幹細胞に対しては経験がないため通常同様、PDL/ラミン処理を行った。従って、EGF除去と同じ環境になるため、神経幹細胞は分化が促進された状態になっているものと考えられる。現在、ネスチン、チューブリン、GFAPを染色することで、幹細胞、神経細胞、非神経細胞それぞれの分化状態を確認している。

次の図2に電位計測の結果を示す。

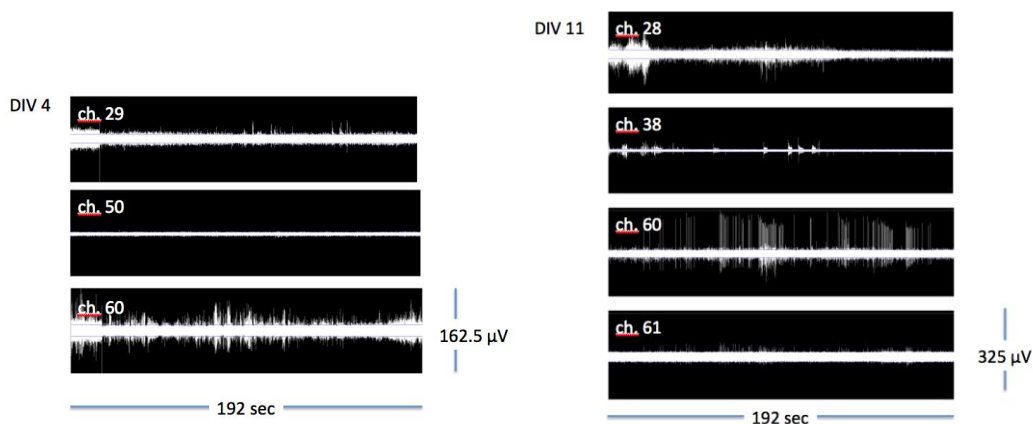


図2 神経幹細胞の電気活動計測

計測は、まだプレリミナリーなものであるが、培養開始後4日ほどで電気活動が観測され始め(図2左)、11日目で神経活動特有のパターンが観測された。チャンネル(電極)間で差はあるものの、活動の際に生じる電位が $80\mu\text{V}$ 程度から $180\mu\text{V}$ 程度の約2.2倍大きくなっていることが明らかとなった。また、当初は、神経活動の際観測される典型的な同期したパルス状の活動は観測されず、離散的な傾向が見られた。11日の結果は、通常の大脳皮質や海馬の培養に比べると電極あたりの神経活動が極めて活発である。EGFが除去された状態であるので、分化が進み、神経が急速に増えたことを反映しているのであろうと考えられる。一方で、電極間相互での同期は観測されず、神経回路自体の形成はあまり促進されてはいない。今後、計測数を増やす必要はあるものの、電極(ch)毎の活動が一樣でないこと、回路特有の電気活動が観測されないことから、細胞自身、高いアクティビティを保ったまま、かなり活発に動き回っていることが予想される。

実際、タイムラプス観察で細胞の動きを観察すると、活発に動き回る様子が観測される。この動きにもある傾向が見受けられることから、現在、染色による細胞の分化と電位計測との関連性解明とともに、GAD67ノックインマウスを使用して、抑制性と興奮性神経細胞への分化/発達の違いや非神経細胞など細胞の種類による成長/分化に伴う動態観察を行っている。

5. 研究成果の公表

※発表論文リスト(掲載予定、プレプリントを含む。準備中も可)、学会発表等
関連発表

- (1) K. Torimitsu, Functional analysis of receptor protein for biomimetic device formation - structure and function -, *The 4th Mt. Lofty workshop on frontier technologies for nervous system function and repair*, Adelaide, Australia, 2010.12.17 -12.19
- (2) N. Nakano, T. Iwata, A. Shimada, N. Kasai and K. Torimitsu, A custom CMOS LSI design of head stage multi-channel amplifier for brain machine interface, *41st SFN Annual meeting, Neuroscience 2011*, 2011.11.12-16 (予定)