

成熟した培養神経回路のネットワーク形状と活動の経時変化

指導教員 高橋 宏知 講師

機械情報工学科 03-103001 大川 知

1. 背景

複雑な環境で行動する知能機械を実現するために、生物が脳で行っている情報処理・情報表現の仕組みを明らかにすることには大きな意義がある。生体は発生の過程で神経管を分裂・分化させ脳を形成していく。さらに、成体となった後も神経細胞を新生させ、脳内神経ネットワークは常に変化している[1]。この神経ネットワークの変化の重要性は行動実験で示されているが[2]、神経細胞の移動やそれに伴う活動、及びその意義については明らかにされていない。

2. 目的

神経回路内の活動パターンは、そのネットワーク形状に依存しているはずだが、両者のダイナミクスを明らかにした先行研究はない。本研究の目的は、初代分散培養系を研究のモデルとして、神経回路を構成する神経細胞の移動を調べ、さらにそれに伴う活動の変化の関係を明らかにすることである。

3. 実験

本研究で行う神経細胞は妊娠 18 日目ウイスター系ラットの胎児から摘出した大脳皮質の神経細胞である。

3.1. 実験 1 神経細胞の移動に伴う活動の変化

本実験では、高密度 CMOS アレイ (図 1) を用いて神経細胞の移動量を定量化し、さらにそれに伴う活動量の変化を調べる。DIV (Days *in vitro*) 26 から DIV42 までに断続的な測定日をもうけ、高密度 CMOS アレイの測定データから活動電位マップから神経細胞体の位置を計算し、その結果を測定日ごとに比較することで神経細胞体の移動と活動の変化を観察する。

3.2. 実験 2 播種日数の異なる神経細胞群の共培養

本実験では、成熟神経細胞群と幼若神経細胞群を H 型セパレータ (図 2) を用いて共培養し、神経細胞の移動量の違いを調べ、またカルシウムイメージング法によって神経接続の有無を確認する。

4. 実験結果

実験 1 から、神経細胞は 1 日に $2 \pm 1 \mu\text{m}$ 移動する。また、移動距離と測定初日の発火頻度の関係を図 3 に示す。この関係には有意な負の相関がみられる。

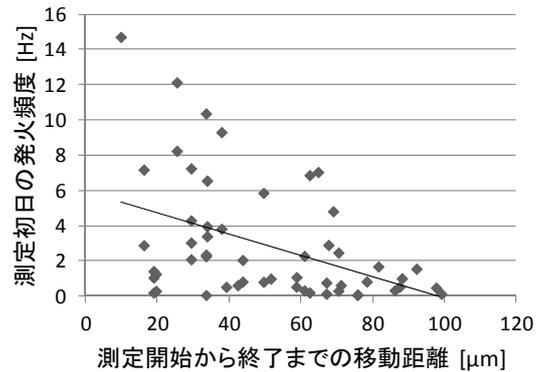


図 3 神経細胞の移動距離と発火頻度の関係

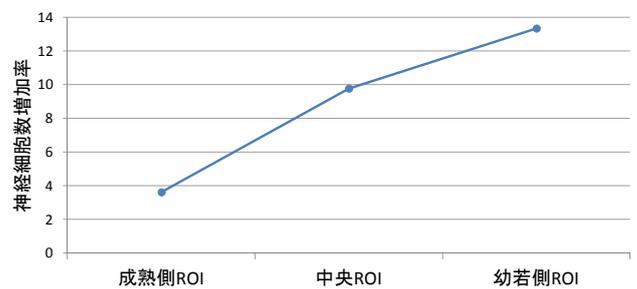


図 4 各 ROI の神経細胞平均増加率

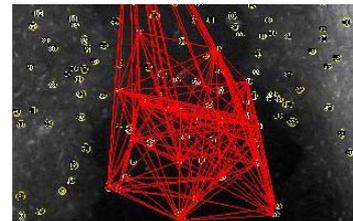


図 5 神経接続

実験 2 では、成熟神経細胞群と幼若神経細胞群神経細胞群の間を 3 分割した ROI (Region Of Interest) を作成し、各 ROI の神経細胞数増加率を計算した (図 4)。幼若神経細胞は、成熟神経細胞より多く移動している。

また、カルシウム蛍光の輝度変化相関を計算することによって培養日数の異なる 2 つの神経細胞群が互いに神経結合していることを確認した (図 5)。

5. 結論

本研究では神経回路を構成する神経細胞の移動を調べ、さらにそれに伴う活動の変化の関係を明らかにすることを目的とし、以下の結果を得た。

- (1) 神経細胞は 1 日に $2 \pm 1 \mu\text{m}$ 移動している。
- (2) 移動する神経細胞ほど発火頻度が低い。
- (3) 幼若神経細胞は成熟神経ネットワークと機能結合する。

以上より、神経細胞はその培養日数に関わらず、恒常的に発火頻度を高めるために移動をしていると考えられる。

参考文献

- [1] P. S. Eriksson, et al. "Neurogenesis in the adult human hippocampus," *Nature medicine*, 1998.
- [2] C. D. Clelland, et al. "A functional role for adult hippocampal neurogenesis in spatial pattern separation," *Science*, 2009.

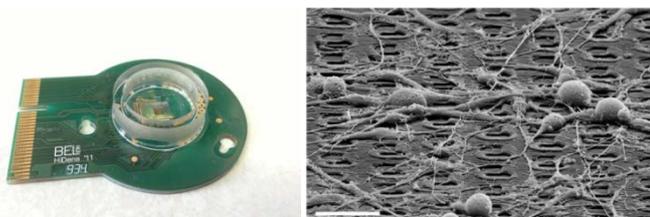


図 1 高密度 CMOS アレイ (左) と播種表面 (右)

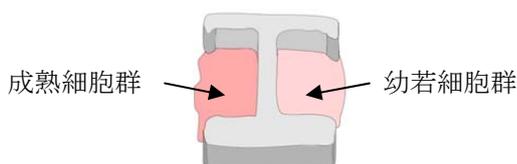


図 2 H 型セパレータ