高橋斗威、指導教員: 高橋宏知 准教授

キーワード continuous stimulation, dissociated neuronal culture, development, repeatability, synchronized burst

1. 序論

培養神経回路の刺激の識別率能力は、繰り返し刺激前後で 向上することが示唆されている[1].故に培養神経回路は外部 からの入力に合わせて自身を変化させていると考えられる.

そこで今回は、(1)継続的な刺激で培養神経回路の発達はどう変化するのか、(2)誘発応答は DIV と共にどう変わるのか、 また(3)自発活動のみで成長した神経回路に比べて刺激への 応答がどのように異なるのかを調べるために実験を行なった.

2. 実験手法

胎児ラットの大脳皮質を高密度電極アレイ上で培養した. 4 枚の培養皿のうち 2 枚を刺激組(Chip#1, Chip#2),もう 2 枚 を無刺激組(Chip#3, Chip#4)とし,全培養皿において DIV10~ 21 まで毎日 30 分間,自発活動を計測した.

刺激組には DIV11~21 まで,1 セット 90 分間の刺激を毎日 2 セットずつ与え続けた.刺激は周期 10~13 秒の 9 点刺激だ った.

DIV21 の継続刺激終了後,全ての培養皿で複数種類の刺激 を与える実験を行なった.用いた刺激の空間パターンは4種 類で,各パターンは6点刺激,周期は16~19秒であった.

誘発応答の比較指標として刺激特異応答性を用いた.これ は同じ刺激への誘発応答の再現性と異なる刺激への誘発応答 の類似度の差とした.

3. 結果

自発バーストの再現性の DIV 変化は図 1 のようになった. DIV14~16 の発達中期で無刺激組では再現性が上昇したが, 刺激組では上昇しなかった. DIV20 以降で組間の違いは見ら れなくなった.

図 2 は刺激組の誘発応答の発火率遷移を表す. 図から, Chip#2では刺激後の発火率上昇がよく起きていたことがわか る.また Chip#2 では DIV の増加とともに発火率のピークが早 まった.図3は刺激後5~20ms 間と20~200ms 間の誘発応答 の類似度の平均を示す.刺激後5~20ms 間の応答の類似度は 両培養皿で DIV とともに上昇した.

最後に,DIV21での複数種類刺激実験の結果を示す.図4は, 全培養皿の刺激特異応答性の時間遷移を示す.刺激組の Chip#2 は無刺激組に比べて高い特異応答性を示したが, Chip#1 の特異応答性は低い.

4. 考察

刺激組において自発バーストの再現性が抑えられる DIV14 ~16の期間は、刺激後 5~20ms 間の誘発応答の類似度がそれ までより高くなる DIV と一致している.故に刺激によって直 接駆動される誘発応答[2]が自発活動の発達の変化に寄与し ていると考えられる.理由として、刺激直後の応答は発火順 序の再現性が高く,STDP のような発火順序に依存した可塑性 が起きやすいことが考えられる.

Chip#2の誘発応答で発火率のピークが早まった理由として は、ネットワークの成長と共に近い細胞間の結合が強まった ことが考えられる.

DIV21 の複数種類刺激実験では、刺激後数百 ms の時間範囲 で誘発応答の発火率上昇が大きかった Chip#2 でのみ、無刺激 組よりも特異応答性が大きくなった.理由として、継続的な 局所刺激で誘発された同期バーストが、ネットワーク全体の 結合を変化させた[3]ことが考えられる.

5. 結論・今後の課題

継続的な刺激は発達過程における自発バーストの再現性の 上昇を抑えると考えられる.またその過程で誘発応答の発火 率上昇のピークは早まっていく.

刺激への応答性の高い培養皿で、刺激特異応答性が上昇す ることが示唆された.しかし今回の実験ではそのような条件 に一致する試料数は1であり、今後より多くの試料で実験す る必要がある.

参考文献

- Ruaro, M. E., Bonifazi, P., & Torre, V. (2005). Toward the neurocomputer: image processing and pattern recognition with neuronal cultures. IEEE Transactions on Biomedical Engineering, 52(3), 371-383.
- [2] Jimbo, Y., Kawana, A., Parodi, P., & Torre, V. (2000). The dynamics of a neuronal culture of dissociated cortical neurons of neonatal rats. Biological cybernetics, 83(1), 1-20.
- [3] Madhavan, R., Chao, Z. C., & Potter, S. M. (2007). Plasticity of recurring spatiotemporal activity patterns in cortical networks. Physical biology, 4(3), 181.

