

令和元年6月10日現在

機関番号：82401

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07358

研究課題名(和文) iPS細胞由来神経細胞でつくるin vitroワーキングメモリモデル

研究課題名(英文) Development of iPS cell-based functional working memory model in vitro

研究代表者

矢田 祐一郎 (Yada, Yuichiro)

国立研究開発法人理化学研究所・バイオリソース研究センター・特別研究員

研究者番号：80805797

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、細胞集団に電気刺激を与えることによるワーキングメモリ指標評価方法の開発を目標とした。マウスiPS細胞、及びヒトiPS細胞から分化した神経細胞を用いて、多点電極アレイ上に培養することで、細胞集団に対して電気刺激を与えられる実験系を構築し、対象とした細胞で電気刺激実験に適した培養日数等の条件検討を実施した。また、実際に電気刺激パターンを与え、応答を計測した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

iPS細胞を使用して培養皿上に神経疾患を再現し、有効な薬剤を探索するなどの創薬基盤として利用することに注目が集まっている。認知症などの神経「機能」の疾患モデルを評価する上では、遺伝子やタンパク質の発現、細胞死や形態変化に留まらず、培養皿上の神経集団機能を評価する方法の開発が有用と考えられる。本研究を礎として、電気刺激応答による機能評価手法の開発が期待される。

研究成果の概要(英文)：The aim of this project was developing a method to evaluate cellular working memory by electrical stimulation. We cultivated mouse/human iPSC (induced pluripotent stem cell) derived neurons on multi-electrode array, so that patterned stimulation can be added to the cell population. We investigated the suitable experimental conditions, including cultivation period, of the cells for the experiment.

研究分野：神経工学

キーワード：多点電極アレイ iPS細胞由来神経細胞 神経同期活動

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

アルツハイマー型認知症などの認知症疾患は記憶・行動障害を伴い、ワーキングメモリの低下を引き起こす。ワーキングメモリとは、一時的に情報を保持して、その保持した情報に依存して別の情報を処理するための記憶機構である。日本では平成 22 年の段階で 65 歳以上の高齢者の約 15%、400 万人以上が認知症を有すると推計されており、その数は今後さらに増加すると見込まれている。認知症患者は介護を要する場合も多く、認知症患者の増加は膨大な医療費を要するため、その治療法の開発は極めて重要である。その根本的治療法はまだ開発されておらず、進展が望まれている。薬剤による治療法開発にあたり、近年では iPS 細胞 (induced pluripotent stem cell: 人工多能性幹細胞) を利用した薬剤のスクリーニング (ふるい分け) が着目されている (Inoue et al. EMBO J., 2014)。ヒトの疾患特異的細胞を使うことにより、ヒトに対して効果のある薬剤を見つけて、臨床応用まで効率的に繋げられる方法と期待されている。

培養神経細胞を使った薬剤試験では、一般的には生存率、形態変化、遺伝子・タンパク質の発現が調べられる (Imamura et al., Sci. Rep., 2016, Kondo et al., Cell Rep., 2017)。薬剤に副作用などの毒性の有無を試験するため、電気生理特性が調べられることもある。しかし、認知症疾患への薬剤効果を調べるためには、記憶や情報処理など、神経「機能」への影響を評価する方法がなくてはならないと考える。このような「In vitro 神経細胞集団の機能評価モデル」は今のところ確立されていない。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、iPS 細胞から分化させた神経細胞集団を培養した培養神経回路に対して、電気刺激を与えることで情報保持容量を評価する手法を開発し、in vitro ワーキングメモリモデルとして機能し得ることを示すことである。In vitro で脳機能の疾患である認知症への薬剤効果を検証するためには、分子や遺伝子、形態、電気生理的特徴を調べるだけでなく、脳機能の源泉となる神経回路レベルの「機能」評価方法が望まれる。認知症疾患では脳のワーキングメモリ機能が低下することが知られている。In vitro で細胞のワーキングメモリ機能を評価することが可能になれば、iPS 細胞由来神経細胞を創薬基盤として利用する上で非常に大きな貢献を持つ。

### 3. 研究の方法

本研究では、マウス iPS 細胞から分化させた神経細胞、ヒト iPS 細胞から分化させた神経細胞、及び、分化済みのヒト iPS 由来神経細胞の 3 種類の細胞を使用した。これらの細胞を多点電極アレイ上に培養して、電気活動の細胞外多点計測、および電気刺激を行なった。初めに iPS 細胞は神経細胞に分化を誘導した上で、多点電極アレイ上に播種し、一定期間インキュベータ内で培養し、培養神経回路を構築した。培養期間中は神経細胞の発火頻度を定期的に観測し、発達により電気活動が成熟していく観測した。最終的に多点電極アレイの電極から、細胞集団に電気刺激を入力した。

### 4. 研究成果

本研究の成果として下記が得られた。

- (1) 高密度多点電極アレイを用いて、マウス iPS 細胞から分化させた神経細胞集団から電気活動が取得できることを確認した。及び、上記で立ち上げた実験系を用いて、ヒト iPS 細胞から分化させた神経細胞集団に対しても神経同期発火を含む電気活動が取得できることを確認した。
- (2) ヒト iPS 細胞から分化した神経細胞集団に対して、定期的に多点電極アレイで計測した神経活動、及び神経同期発火から、それぞれの使用株で電気計測・電気刺激実験に適した培養日数を検討した。

### 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 1 件)

鹿山 敦至、矢田 祐一郎、高橋 宏知、神経細胞の分散培養系における集団同期発火パターンとネットワーク構造の発達、電気学会論文誌 C (電子・情報・システム部門誌) 査読あり、139 巻、2019、pp.570-578、DOI:doi.org/10.1541/ieejieiss.139.570

[学会発表](計 5 件)

鹿山 敦至、矢田 祐一郎、神崎 亮平、高橋 宏知、培養神経細胞の集団的同期発火パターンを生成するネットワーク構造、電子・情報・システム部門 医用・生体工学研究会、MBE18004、東京、2018 年 3 月

藤田 裕介、矢田 祐一郎、窪田 智之、鹿山 敦至、神崎 亮平、林 賢、高橋 宏知、培養神経回路内の記憶への miRNA による影響、電子・情報・システム部門 医用・生体工学研究会、MBE18003、東京、2018 年 3 月

矢田 祐一郎、角田 颯飛、高橋 宏知、高密度 CMOS 電極アレイによる電気刺激が想起する培養神経回路の記憶様パターン、平成 29 年電気学会電子・情報・システム部門大会講演論文集、TC6-21、高松、2017 年 9 月

藤田 裕介、矢田 祐一郎、神崎 亮平、高橋 宏知、培養神経回路内の記憶の miRNA による影響、平成 29 年電気学会電子・情報・システム部門大会講演論文集、TC6-17、高松、2017 年 9 月

窪田智之、Viet Duc Pham、Florian Roehrbein、矢田祐一郎、高橋宏知、ユーロモーフィックチップによる神経回路の自発活動のシミュレーション、平成 29 年電気学会電子・情報・システム部門大会講演論文集、TC6-20、高松、2017 年 9 月

〔図書〕(計 1 件)

矢田 祐一郎、今村 恵子、井上 治久、iPS 治療の今後の見通しはどうなっていますか？、服部 信孝、下 泰司、波田野 琢(編)、鈴木 則宏(監)、神経内科 Clinical Questions & Pearls パーキンソン病、中外医学社、分担執筆、pp. 302-305、2019 年 1 月、ISBN: 978-4-498-32804-4

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等  
researchmap  
<https://researchmap.jp/yuichiro.yada/>

研究代表者の個人 HP  
<https://yuichiro-yada.tumblr.com/>

## 6. 研究組織

### (1)研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号(8桁)：

### (2)研究協力者

研究協力者氏名：井上治久

ローマ字氏名：Haruhisa Inoue

研究協力者氏名： 今村 恵子  
ローマ字氏名： Keiko Imamura

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。