

令和 6 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（開拓）

研究期間：2020～2023

課題番号：20K20643

研究課題名（和文）機能する培養ヒト神経回路組織の構築

研究課題名（英文）Construction of functional cultured neural circuitry

研究代表者

池内 与志穂（IKEUCHI, Yoshiho）

東京大学・生産技術研究所・准教授

研究者番号：30740097

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 20,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、脳内の神経回路の複雑さを単純化し、体外で再現することでその機能と仕組みを理解することを目的とした。特に、複数の脳領域を模したオルガノイドを接続して機能する「培養ヒト脳回路組織」を作製することを目指した。大脳、中脳、視床、基底核、脊髄を模倣したオルガノイドを作製し、これらを接続した回路組織を作製した。活動電位の伝達ルールや刺激応答の変化を観察し、培養手法の確立と独自手法の開発を行った。パターン認識タスクでは若干の性能向上を認め、今後の研究に繋がる重要な知見を得た。今後は、さらに高度な神経回路の再現と学習機能の付与を目指し、神経疾患モデルや治療法の開発に応用することを目指す。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の学術的意義は、ヒトの脳内神経回路を体外で再現し、その機能と学習メカニズムを理解する新たな方法を確立した点にある。神経回路の複雑な動態を解明するための基礎的手法を開拓し、新たな研究分野を切り開くものである。また、神経オルガノイドに計算処理をさせることが世界的に期待され始めているため、先行して知見を得られたことは意義深い。得られた知見を基に神経疾患のモデル構築や新たな治療法の開発が期待される。特に、脳の可塑性や学習機能の理解が進むことで、認知症や精神疾患などの治療に革新をもたらす可能性がある。さらに、人工知能やロボティクス分野への応用も見込まれ、幅広い社会的貢献が期待される。

研究成果の概要（英文）：This research aimed to simplify the complexity of neural circuits in the brain and recreate them outside the body to understand their functions and mechanisms. Specifically, it sought to create functional "cultured human brain circuit tissues" by connecting multiple brain region-mimicking organoids. Organoids mimicking the cerebrum, midbrain, thalamus, basal ganglia, and spinal cord were produced and connected to form circuit tissues. Transmission rules of action potentials and changes in response to stimulation were observed, and culturing methods were established along with the development of unique techniques. In pattern recognition tasks, slight improvements in performance were noted, yielding significant insights for future research. Moving forward, the aim is to achieve a more advanced recreation of neural circuits and learning functions, with applications for developing models and treatments for neurological diseases.

研究分野：培養神経工学

キーワード：神経 オルガノイド 組織工学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

本研究は、脳内の神経回路の複雑さを単純化し、体外で再現することでその機能と仕組みを理解することを目的とした。特に、複数の脳領域を模したオルガノイドを接続し、機能する「培養ヒト脳回路組織」を作製することを目指した。脳の神経回路は高度な情報処理を行うために必要不可欠であるが、その複雑さゆえに本質的な理解が難しい。これを克服するために、神経オルガノイド技術を用いて脳のミニチュアモデルを作製し、その学習機能や情報処理能力を解析することを試みた。

### 2. 研究の目的

これまでに神経オルガノイド間の軸索束を介した接続による巨視的な回路の再現はこれまでに他のグループからは報告がなく、新たな技術開発が必要であった。複数の脳領域間の接続を模したオルガノイド間での情報伝達やシナプス形成を再現するため、大脳、中脳、視床、基底核、脊髄を模倣したオルガノイドを作製し、これらを接続し、機能を持たせることを目的とした。個々のオルガノイドの作製とその接続方法の最適化を必要とし、高度な培養技術と解析手法を確立し、培養ヒト脳回路組織にパターン認識を学習させる試みは、神経科学の新たな地平を切り開くものであり、極めて意欲的な挑戦であった。

### 3. 研究の方法

本研究では、ヒト iPS 細胞を分化させて神経オルガノイドを作製した。分化の過程では、大脳、中脳、視床、基底核、脊髄それぞれの脳領域に分化するように誘導因子を加えた。分化の成功を確認するため、細胞のアイデンティティをマーカーの免疫染色によって検証した。さらに、より成熟した細胞を得るために、培養期間を3ヶ月以上と長めに設定した。

培養した神経オルガノイドの活動は、多電極アレイ (MEA) システムを用いて測定した。使用した MEA システムは、64 電極を持つ MED64 と約2万電極を持つ MaxOne の二つである。まず、自発的なスパイク頻度、バースト頻度、ネットワーク活動パターンなどを調査した。オルガノイド間でバーストがほぼ同時に観測された場合には、その時間差を測定し、どちらからどちらに伝わったかなどのルールを調べた。

また、オプトジェネティクス手法を用いてパターン刺激を行い、入力刺激に応答して得られた活動パターンを解析した。この解析には、サポートベクターマシンや畳み込みニューラルネットワークなどの機械学習手法を用いた。特徴に応じて報酬や罰を与える刺激を行い、自由エネルギー原理の検証も行った。

これらの手法を通じて、神経オルガノイドの機能と学習メカニズムを詳細に解析し、神経回路の複雑な動態を解明することを目指した。

### 4. 研究成果

まず、大脳、中脳、視床、基底核、脊髄を模倣した多種の神経オルガノイドを作製した。この作製には、ヒト iPS 細胞を用いた三次元的な神経分化誘導技術を用い、各脳領域の特徴を持つオルガノイドを作製する方法を確立した。さらに、大脳と大脳、大脳と中脳、大脳と視床、大脳と基底核、大脳と脊髄というペアでオルガノイド同士を接続する回路組織を作製した。これにより、オルガノイド間で活動電位を伝える際に特定のルールが存在することを発見した。例えば、大脳オルガノイドと中脳オルガノイドを接続すると、大脳オルガノイドが活動を中脳オルガノイドに伝える傾向が強いことが分かった。

また、大脳と大脳を接続した回路組織に繰り返し刺激を加えると、応答が変化する様子を観察した。この結果は、神経回路が経験に応じて可塑的に変化する証拠となり、学習機能の基礎的なメカニズムの一端を示すものであった。さらに、神経オルガノイドの自発的な活動電位の計測と刺激応答の増強のための培養手法を確立し、培養液の組成なども改良した。これにより、オルガノイドの生存率と機能性を向上させ、長期間にわたる実験が可能となった。また、神経オルガノイド回路組織の活動を測定しやすくする独自手法を開発し、特許出願中である。この手法は、神経活動の高解像度な計測を実現し、回路全体の動態を解析するための重要な技術として期待される。

さらに、パターン認識タスクを行うためのクローズドループ実験環境を整備した。この環境では、オルガノイドに特定の刺激を与え、その応答をフィードバックとして入力することで学習効果を測定することができる。特定の条件では、若干のパターン認識性能向上を認めた。自由エネルギー原理に基づく刺激方法を試したところ、こちらも若干のパターン認識性能向上が見られたが、さらなる検証が必要である。これらの成果は、神経回路の可塑性と学習機能の理解を深める

ものであり、今後の研究に繋がる重要な知見を提供するものである。

今後は、本研究で得られた知見と技術を基に、さらに高度な神経回路の再現と学習機能の付与を目指す。特に、複数のオルガノイドを接続する技術をさらに発展させることで、より複雑な神経ネットワークを再現し、その機能を解析することが可能となる。また、得られた成果を応用し、神経疾患のモデル構築や新たな治療法の開発に寄与することを目指す。例えば、特定の神経回路の異常が原因となる疾患モデルを作製し、その治療法を検討することで、臨床応用への道を開くことが期待される。

さらに、自由エネルギー原理に基づく刺激方法の確立とその応用を進めることで、神経回路の可塑性を制御し、効率的な学習機能を実現することを目指す。これにより、人工知能やロボティクスへの応用も視野に入れた多方面での研究展開が期待される。最終的には、ヒトの脳の複雑な機能を体外で再現し、そのメカニズムを解明することで、神経科学とその応用分野において大きな進展をもたらすことを目指す。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 16件 / うち国際共著 2件 / うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Saito Hironori, Osaki Tatsuya, Ikeuchi Yoshiho, Iwasaki Shintaro	4. 巻 13
2. 論文標題 High-throughput Assessment of Mitochondrial Protein Synthesis in Mammalian Cells Using Mito-FUNCAT FACS	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 BIO-PROTOCOL	6. 最初と最後の頁 e4602
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.21769/BioProtoc.4602	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chow Siu Yu A., Nakayama Kazuki, Osaki Tatsuya, Sugiyama Maki, Yamada Maiko, Takeuchi Hirota, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 40
2. 論文標題 Human sensory neurons modulate melanocytes through secretion of RGMB	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Cell Reports	6. 最初と最後の頁 111366 ~ 111366
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.celrep.2022.111366	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Murata Kei, Saibe Yuki, Uchida Mayu, Aono Mizuki, Misawa Ryuji, Ikeuchi Yoshiho, Ishii Kazuyuki	4. 巻 58
2. 論文標題 Two-photon, red light uncaging of alkyl radicals from organorhodium(<sc>iii</sc>) phthalocyanine complexes	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 11280 ~ 11283
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d2cc03672j	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Chow Siu Yu A., Hu Huaruo, Osaki Tatsuya, Levi Timothy, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 47
2. 論文標題 Advances in construction and modeling of functional neural circuits in vitro	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Neurochemical Research	6. 最初と最後の頁 2529 ~ 2544
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11064-022-03682-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Chow Siu Yu A., Nakanishi Yui, Kaneda Shohei, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 2515
2. 論文標題 Modeling Axonal Degeneration Using Motor Nerve Organoids	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol.	6. 最初と最後の頁 89 ~ 97
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-2409-8_6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Wu Xiaobin, Park Jongho, Chow Siu Yu A., Kasuya Maria Carmelita Z., Ikeuchi Yoshiho, Kim Beomjoon	4. 巻 13
2. 論文標題 Localised light delivery on melanoma cells using optical microneedles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Optics Express	6. 最初と最後の頁 1045 ~ 1045
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/BOE.450456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamaguchi Takafumi, Usami Naoto, Misumi Kei, Toyokura Atsushi, Higo Akio, Ono Shimpei, Hwang Gilgueng, Larrieu Guilhem, Ikeuchi Yoshiho, Tixier-Mita Agnes, Saito Ken, Levi Timothee, Mita Yoshio	4. 巻 31
2. 論文標題 Self-Deformable Flexible MEMS Tweezer Composed of Poly(Vinylidene Fluoride)/Ionic Liquid Gel for Electrical Measurements and Soft Gripping	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Microelectromechanical Systems	6. 最初と最後の頁 802 ~ 812
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1109/JMEMS.2022.3187428	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Misawa Ryuji, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 0
2. 論文標題 Light-Induced Differentiation of Forebrain Organoids by NVOC-SAG	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Methods Mol Biol	6. 最初と最後の頁 185 ~ 194
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/978-1-0716-1701-4_16	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kashiwagi Kazuhiro, Shichino Yuichi, Osaki Tatsuya, Sakamoto Ayako, Nishimoto Madoka, Takahashi Mari, Mito Mari, Weber Friedemann, Ikeuchi Yoshiho, Iwasaki Shintaro, Ito Takuhiro	4. 巻 12
2. 論文標題 eIF2B-capturing viral protein NSs suppresses the integrated stress response	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 12
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-021-27337-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mitsuzawa S, Suzuki N, Akiyama T, Ishikawa M, Sone T, Kawada J, Funayama R, Shirota M, Mitsuhashi H, Morimoto S, Ikeda K, Shijo T, Ohno A, Nakamura N, Ono H, Ono R, Osana S, Nakagawa T, Nishiyama A, Izumi R, Kaneda S, Ikeuchi Y, Nakayama K, Fujii T, Warita H, Okano H, Aoki M	4. 巻 16
2. 論文標題 Reduced PHOX2B stability causes axonal growth impairment in motor neurons with TARDBP mutations	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Stem Cell Reports	6. 最初と最後の頁 1527 ~ 1541
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.stemcr.2021.04.021	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Wu Xiaobin, Park Jongho, Chow Siu Yu A., Kasuya Maria Carmelita Z., Ikeuchi Yoshiho, Kim Beomjoon	4. 巻 13
2. 論文標題 Localised light delivery on melanoma cells using optical microneedles	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biomedical Optics Express	6. 最初と最後の頁 1045 ~ 1045
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1364/BOE.450456	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Osaki Tatsuya, Chow Siu Yu A., Nakanishi Yui, Hernandez Joel, Kawada Jiro, Fujii Teruo, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 163
2. 論文標題 Three-Dimensional Motor Nerve Organoid Generation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiments	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3791/61544	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Nakayama Kazuki, Sassa Shoko, Sugiyama Maki, Kurosumi Motonori, Nishikori Shu, Chow Siu Yu A., Suzuki Tamio, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 -
2. 論文標題 Three-dimensional imaging of the hyperpigmented skin of senile lentigo reveals underlying higher density intracutaneous nerve fibers	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Dermatological Science	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jdermsci.2021.01.010	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Nagayoshi Y., Chujo T., Hirata S., Nakatsuka H., Chen C.-W., Takakura M., Miyauchi K., Ikeuchi Y., Carlyle B. C., Kitchen R. R., Suzuki T., Katsuoka F., Yamamoto M., Goto Y., Tanaka M., Natsume K., Nairn A. C., Suzuki T., Tomizawa K., Wei F.-Y.	4. 巻 7
2. 論文標題 Loss of Ftsj1 perturbs codon-specific translation efficiency in the brain and is associated with X-linked intellectual disability	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Science Advances	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/sciadv.abf3072	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Misawa Ryuji, Minami Tsuyoshi, Okamoto Akimitsu, Ikeuchi Yoshiho	4. 巻 38
2. 論文標題 Light-inducible control of cellular proliferation and differentiation by a Hedgehog signaling inhibitor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bioorganic & Medicinal Chemistry	6. 最初と最後の頁 116144 ~ 116144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bmc.2021.116144	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shaik Faruk Azam, Ihida Satoshi, Ikeuchi Yoshiho, Tixier-Mita Agnes, Toshiyoshi Hiroshi	4. 巻 169
2. 論文標題 TFT sensor array for real-time cellular characterization, stimulation, impedance measurement and optical imaging of in-vitro neural cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Biosensors and Bioelectronics	6. 最初と最後の頁 112546 ~ 112546
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.bios.2020.112546	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計11件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Beaubois R, Khoiratee F, Branchereau P, Ikeuchi Y, Levi T
2. 発表標題 From real-time single to multicompartmental Hodgkin-Huxley neurons on FPGA for bio-hybrid systems.
3. 学会等名 Annu Int Conf IEEE Eng Med Biol Soc. (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Advanced Complexity and Plasticity of Neural Activity in Reciprocally Connected Human Cerebral Organoids
3. 学会等名 第45回日本神経科学大会 / 第65回日本神経化学学会大会 / 第32回日本神経回路学会大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Organoids-on-a-chip models for understanding neuronal circuits and underlying protein synthesis regulations
3. 学会等名 The 28th Tokyo RNA Club
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池内与志穂
2. 発表標題 末梢神経オルガノイドチップの開発と応用
3. 学会等名 日本末梢神経学会
4. 発表年 2022年



1. 発表者名 池内与志穂
2. 発表標題 大脳オルガノイドをつなげて神経回路を創る
3. 学会等名 細胞を創る研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 池内与志穂
2. 発表標題 神経オルガノイドを用いた神経のしなやかな翻訳調節とその機能の探索
3. 学会等名 第95回日本生化学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Organoids-on-a-chip models for understanding neuronal circuits and underlying protein synthesis regulations
3. 学会等名 日本生物物理学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Organoids-on-a-chip models for understanding neuronal circuits and underlying protein synthesis regulations
3. 学会等名 日本分子生物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Osaki, Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Advanced Complexity and Plasticity of Neural Activity in Reciprocally Connected Human Cerebral Organoids
3. 学会等名 ISSCR (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Osaki, Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Advanced Complexity and Plasticity of Neural Activity in Reciprocally Connected Human Cerebral Organoids
3. 学会等名 日本神経科学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Tatsuya Osaki, Yoshiho Ikeuchi
2. 発表標題 Advanced Complexity and Plasticity of Neural Activity in Reciprocally Connected Human Cerebral Organoids
3. 学会等名 日本神経化学会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	ティクシェ三田 アニエス  (Tixier-Mita Agnes)  (00334368)	東京大学・生産技術研究所・准教授     (12601)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------