

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2015

課題番号：25560197

研究課題名(和文) iPS細胞由来再生心筋組織と心臓をインターフェイスする電子デバイス

研究課題名(英文) Electric device which interfaces heart to regenerated cardiac tissue derived from iPS cells

研究代表者

八木 哲也 (YAGI, Tetsuya)

大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・教授

研究者番号：50183976

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：培養組織によって不全に陥った神経筋器官の機能を再建するには、ホスト組織と移植組織のインターフェイス(IF)が必要である。本研究の目的は、この培養組織活動を制御する電子デバイスIFの開発である。研究の結果、多チャンネルで任意の刺激パターンを生成できる集積型IFを開発した。このIFは、刺激電流を高い精度で制御でき、また刺激の時空間パターンを自由に設定できることから、今後の生理学実験を大きく加速することが期待できる。また刺激システムが集積化されていることから、システムを顕微鏡にセットし、培養組織を長時間連続的に刺激しその応答をモニターすることができる。

研究成果の概要(英文)：To reconstruct the function of disordered excitable organs with implantation of cultured tissues, an electrical device is needed to interface the activities of the host organ to the implanted tissue. We have developed a multi-channel programmable integrated system that can electrically stimulate the tissue during the culture. The system can deliver currents at a high precision and with various spatio-temporal patterns to effectively control the activity of the cultured tissue. The system is compact and can be installed to a microscope, which allows a long term experiment during the culture.

研究分野：生体医工学

キーワード：再生医療 組織培養 iPS細胞 電子デバイス インターフェイス 神経筋

1. 研究開始当初の背景

心筋細胞や神経細胞は、電気的な活動によって機能を表現し興奮性細胞と呼ばれている。また逆に外部から与えられた電気刺激は、これら興奮性細胞から成る心臓や神経組織の活動に影響することが知られている。近年、機能不全に陥った心臓（不全心）や脳神経部位に対し、培養された組織を移植することによって機能回復を試みる研究が盛んになってきている。中でも、採取した細胞を初期化した人工多能性幹細胞（iPS 細胞）から再生組織を作り移植する研究は、夢の医療として脚光を浴びている。ただし、心臓や神経組織（例えば脊髄、網膜）などの機能を再建するためには、単に培養組織を移植するだけでなく、ホスト組織と移植組織を機能的に協調させるインターフェイスが必要であると考えられる。そこで我々は、このインターフェイスのプロトタイプとして、培養段階において培養組織活動をコントロールする電子デバイスの開発を着想した。ここではこのデバイス Tissue Computer Tissue Interface (TCTI) と呼ぶ。同様のアイデアは、いくつかの研究室において発表されているが、我々は将来的に、TCTI を体内へ移植することを念頭において、集積回路化を目指すものである（図 1）。このようなデバイスに関する研究開発は、単なるアイデアを除けば、国内外を通じて見当たらない。

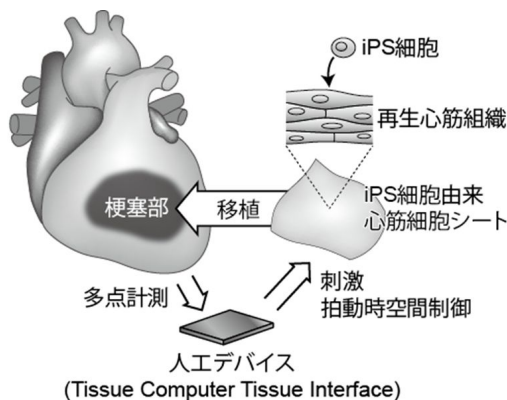


図 1 将来の TCTI の概念図

2. 研究の目的

本研究では、ホスト心臓と再生移植組織の間を結び、両者の協調的な活動を介助する体内移植型人工デバイス、すなわち TCTI の開発に先鞭をつける。

本研究で目指す TCTI は、培養組織に対しシステムチックに電気刺激を与えることができる集積化多チャンネル電子デバイスである。すなわち培養組織がホストと連携して機能するためには、ホスト組織の活動パターンと調和した刺激パターンの生成が必要である。このために電気刺激の強度、時間パターン（刺激パルス時系列）、空間パターン（多点からの連動した刺激）などが制御できなければならない。また刺激電極からの刺激

が組織に対して生理学的に毒性を持たない（例えば刺激電荷バランス）などの制限を満たさなければならない。これらの条件を満たしつつ、培養組織を長期間にわたってコントロールするシステムであるためには、刺激装置は顕微鏡にセットできるコンパクトなものでなければならない。こうした刺激システムは市販では得られず、自ら設計、開発する必要がある。最終的には、顕微鏡に装着できるレベルの TCTI のプロトタイプを作成する。

3. 研究の方法

TCTI 回路の開発は、生体への電気刺激の効果を生理実験によって参照・評価しながら、進めなければならない。ここでは、興奮性組織を電気刺激する生理学実験を行いながら、目的とする TCTI に必要とされる仕様、回路パラメータを検証し、その結果に基づいて回路の設計・製作を行なう。

検証の生理学実験は、当初、主として心筋細胞を用いて行う予定であったが、非効率であったため、マウス脳のスライス標本作製し、これを用いた。電気刺激に対する応答は、多点基板電極による局所電場電位の計測と、Ca 感受性色素および電位感受性色素を用いたイメージングによる集合電位変化計測を併用した。これらの手法を用いて、特に電気刺激のタイミングと、細胞・組織の応答との関係を解析した。またこの結果を計算機シミュレーションにより解析し、応答および応答の伝播のメカニズムを調べた。

一方で、これら生理学実験の結果を参照しながら、TCTI に必要とされる回路仕様を策定し、回路の設計を行った。設計では、まず回路シミュレータを用いて、刺激実験状況を組織の等価電気回路モデルも含めて再現し、動作評価を行なった。その上で、プロトタイプ回路の集積回路設計を行い、テストチップを作成した。最後にテストチップを組み合わせ、TCTI を完成させ、再び生理学実験により、その性能を評価した。

4. 研究成果

研究の成果を以下に箇条書きする。

- (1) 通常、組織への電気刺激を行う際に用いられる電極は、高いインピーダンスを有する。そこで高インピーダンスの刺激電極に対応可能な定電流刺激アンプを設計製作し（図 2 A）、その性能をシミュレーションにより評価した。
- (2) 上記アンプを用いて多チャンネルの刺激電極を駆動することが可能な、集積回路として設計製作し、テストチップを作成した（図 2 B）。

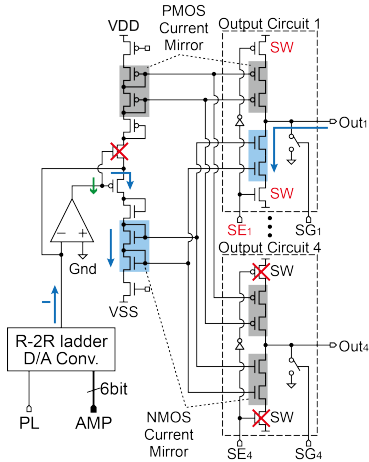


図 2 A 定電流刺激アンプ

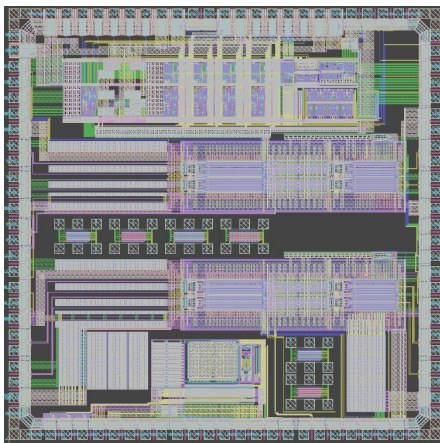


図 2 B 多チャンネル刺激アンプシステムの集積回路レイアウト

- (3) 上記の定電流多チャンネル集積チップの性能を評価するために、市販の高インピーダンス電極を用いて脳スライス標本に電気刺激を行う生理学実験を行なった(図 3 A)。その結果、電流強度、刺激の時空間パターンを十分な精度でコントロールできることを実証した。特に刺激電流精度において、生理学実験のために広く普及している大型アンプよりも高性能であったことは特筆される。作成した回路システムを図 3 B に示す。

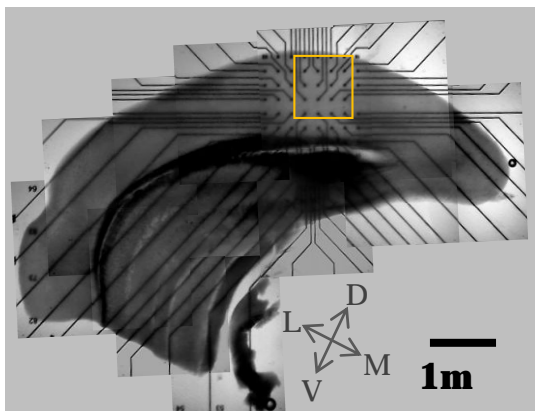


図 3 A 脳スライスへの多チャンネル電流刺激

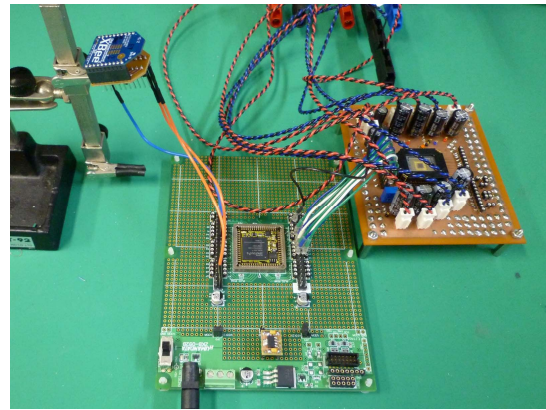


図 3 B 刺激システム

- (4) 多チャンネルで任意の刺激パターンを生成できるプログラマブル回路を作成した。刺激チップは、電流振幅を比較的高い分解能で設定することができ、また刺激パターンを自由度高く設定できることから、生理学実験において非常に有用であり、今後の実験を大きく加速することができる。また刺激システムが集積化されていることから、システムを顕微鏡にセットし、数 10 チャンネルオーダーの多点刺激に対する培養中の組織の反応を、連続的にモニターすることができる。
- (5) 作成したTCIEプロトタイプシステムを顕微鏡にセットし、システムによる電気刺激効果を計測し、その性能を評価した(図 4 A)。刺激に対するマウス脳スライス標本マウス脳スライス標本の応答は、電位感受性色素をもちいたイメージングにより解析した。その結果を図 4 B に示す。その結果、システムがほぼ所望の性能を有することが確認された。また皮質回路の生理学的モデルを構築し、その応答の回路メカニズムについて検討を加えた。

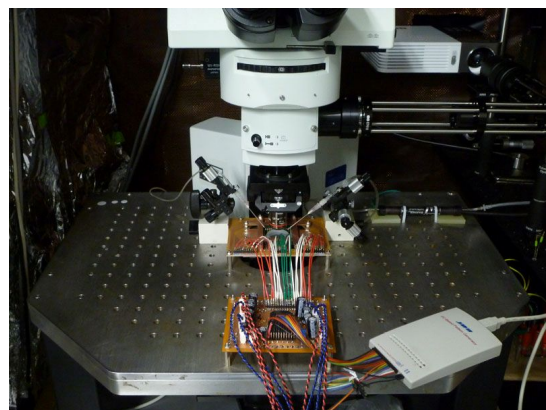


図 4 A 長期細胞組織制御のためのセットアップ

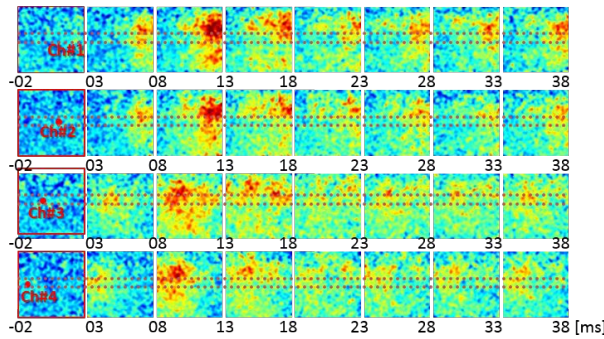


図 4 B プロトタイプ T C T I の刺激により誘発された神経応答

以上のとおり、開発したシステムは多チャンネルからの電気パターンを、高い時空間精度で制御することが可能であり、またコンパクトで顕微鏡等にも装着可能である。このことにより、iPS 細胞などの培養細胞系に対し長期間にわたって連続的かつプログラマブルに刺激を与え、培養組織の活動を長期にわたって観測、制御することを可能にする。さらにシステムの個々のモジュールは集積回路化されているために、将来モジュールを SOC (システムオンチップ) として統合することによって、体内への移植も可能になると期待される。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 3 件)

T.D.Fehervari, T.Yagi, Population response propagation to extrastriate areas evoked by intracortical electrical stimulation in V1, *Frontiers in Neural Circuits*, 査読有, Vol.10, No.6, 2016, pp.1 - 14, doi:10.3389/fncir.2016.00006.

T.D.Fehervari, Y.Okazaki, H.Sawai, T.Yagi, In vivo voltage-sensitive dye study of lateral spreading of cortical activity in mouse primary visual cortex induced by a current impulse, *PLoS ONE*, 査読有, Vol.10, No.7, 2015, pp1 - 24, doi:10.1371/journal.pone.0133853.

亀田 成司、林田 祐樹、田中 宏喜、八木 哲也、高インピーダンス神経電極用多チャンネル電流刺激チップの開発、計測自動制御学会論文集、査読有、Vol.50、No.8、2014、pp.594-601
http://doi.org/10.9746/sicetr.50.594

[学会発表](計 16 件)

S.Futami, T.Fehervari, T.Yagi, Y.Hayashida, Inter-hemispheric neural

excitations of visual cortices in response to electrical microstimuli in mice in vivo, 37th Annual International conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2015 年 8 月 29 日、Milano (Italy)

S.Ohtsu, T.Nomura, S.Uno, K.Maeda, Y.Hayashida, T.Yagi, A large scale simulation of excitation propagation in layer 2/3 of primary and secondary visual cortices of mice, 37th Annual International conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2015 年 8 月 29 日、Milano (Italy)

Y.Hayashida, Y.Umehira, K.Takatani, S.Futami, S.Kameda, T.Kamata, A.Ullah. Khan, Y.Takeuchi, M.Imai, T.Yagi, Cortical neural excitations in rats in vivo with using a prototype of a wireless multi-channel microstimulation system, 37th Annual International conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society, 2015 年 8 月 26 日、Milano (Italy)

[図書](計 件)

[産業財産権]
出願状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

ホームページ等
http://neuron.eei.eng.osaka-u.ac.jp

6. 研究組織

(1) 研究代表者

八木 哲也 (YAGI, Tetsuya)
大阪大学・工学(系)研究科(研究院)・教授
研究者番号：50183976

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()