

平成 22 年 4 月 6 日現在

研究種目：基盤研究 (A)

研究期間：2007～2010

課題番号：19200036

研究課題名 (和文) 時空間精密電気刺激による細胞機能の計測と制御

研究課題名 (英文) Cellular effects of precisely controlled spatio-temporal electrical stimulation

研究代表者

神保 泰彦 (JIMBO YASUHIKO)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：20372401

研究代表者の専門分野：神経工学

科研費の分科・細目：人間医工学・医用生体工学・生体材料学

キーワード：脳・神経, 神経科学, 細胞・組織, 分子認識, ナノバイオ

### 1. 研究計画の概要

神経・心筋細胞等電氣的にアクティブな組織を対象に *in vitro* 系で個々の細胞を可視化した細胞集団を構成し、単一細胞のレベルで時空間的に精密に制御した電気刺激を印加してその効果につき調べる。このような時空間精密電気刺激の効果は短期的な細胞興奮現象の誘導にとどまらず、長期的に遺伝子発現過程に関与することもあり得ると考えている。以上の状況認識に基づき、本研究では、時空間精密電気刺激の効果を(1)短期的な細胞群興奮制御 (心筋細胞系) (2)中期的な神経回路可塑性の誘導 (大脳皮質神経系) (3)長期的な遺伝子発現制御 (心筋細胞・神経細胞両者への分化能を有する P19 細胞系) という 3 つの視点から系統的に調べる。

### 2. 研究の進捗状況

64 個のマイクロ電極を集積化した基板上で細胞培養を行い、時空間的に制御した電気刺激を印加するシステムを製作した。個々の細胞を可視化した培養系とする観点から、培養基板上的マイクロ構造構築手法、基板表面の改質による island culture 形成技術を確立した。この実験系を利用して、電気刺激の効果調べた。

#### (1) 心筋細胞系に対する電気刺激の効果

Wistar ラット新生児から採取した心筋細胞を集積化電極基板上で培養し、自律拍動が確立するまでの過程を調べた。培養開始後数日で系全体で同期した拍動リズムが生成するが、試料によりそのリズムは異なる。これらの系に慢性的な電気刺激を印加することにより、安定したリズムを誘導できる可能性が示された。

#### (2) 神経系に対する電気刺激の効果

Wistar ラット胎児から採取した大脳皮質神経細胞を集積化電極基板上で培養し、電気刺激に対する誘発応答を指標に、時空間的に制御した高頻度刺激の効果調べた。2 点からの電気刺激を一定の時間遅れを持って繰り返し印加することにより、誘起される電気活動が神経回路活動の時空間パターンに反映されることが示された。

#### (3) 幹細胞系に対する電気刺激

神経・心筋両細胞系への分化能を有する P19 胚性腫瘍細胞を試料とし、多数の胚様体を電極基板上に配列させて電気刺激を印加するデバイスを設計・製作した。電気刺激に対する応答として細胞内 Ca<sup>2+</sup> イオン濃度の上昇を観測した。このプロセスを経た細胞群の遺伝子発現を、薬物処理による分化誘導操作に対応した遺伝子発現と比較する評価システムを確立した。

### 3. 現在までの達成度

当初の計画以上に進展している。

(理由) 設定した3つの検討課題に対して、それぞれ今後のさらなる研究展開が期待できる成果を得た。課題(1)では新たな不整脈治療手法に発展する可能性のある結果が得られ、IEEE EMBS 国際会議及び国内電気学会の英文論文誌に公表した。課題(2)は神経回路レベルの学習に関する知見が得られ、電気学会和文論文誌に発表した。課題(3)は再生医療への展開が期待される成果であり、IEEE の国際会議で Young Investigator Award , 電気学会論文誌で奨励賞を受賞した。

### 4. 今後の研究の推進方策

(1) 心筋細胞に対する電気刺激の効果につき、拍動リズムを誘導可能な刺激条件の確立、自律神経系の活動による拍動リズム制御を含めた *in vitro* 実験系の確立と電気刺激の効果の検証を目標に検討を継続する。

(2) 神経細胞に対する電気刺激の効果につき、可塑性の調節に対する neuromodulator の寄与に焦点を当てた実験へと展開する。

(3) 幹細胞に対する電気刺激の効果につき、幹細胞から誘導される神経回路の発達過程、幹細胞から誘導される神経回路と初代培養系との結合、電気刺激印加により誘導される遺伝子発現と薬理操作により誘導される分化過程との比較、の視点から検討を行う。

以上をまとめ、電気刺激の精密制御により得られる効果を、物理的な作用と細胞内代謝過程の誘導など化学的なプロセスを含む作用を区別して統合的に理解することを目標に、計画最終年度の研究を進める。

### 5. 代表的な研究成果

(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21件)

1. Takayama Y, Moriguchi H, Kotani K, Jimbo Y., Spontaneous Calcium Transients in Cultured Cortical Networks During Development, IEEE Trans. BME 56, 2949- 2956, 2009, 査読有
2. Suzurikawa J, Nakao M, Jimbo Y., Takahashi H., Light-Addressed Stimulation Under Ca<sup>2+</sup> Imaging of Cultured Neuron, IEEE Trans. BME56, 2660-2665, 2009, 査読有

3. Takayama Y, Moriguchi H, Saito A, Jimbo Y., Ensemble Stimulation of Embryoid Bodies using Substrate-Embedded Electrodes, IEEJ Trans. 4, pp. 734-735, 2009, 査読有

4. Kotani K., Takamasu K., Jimbo Y., Yamamoto Y., Postural-induced phase shift of respiratory sinus arrhythmia and blood pressure variations - insight from respiratory-phase domain analysis, Am. J.Physiol., 294, pp. H1481-H1489, 2008, 査読有

5. Jimbo Y., MEA-based recording of neuronal activity *in vitro*, Arch. Ita. Biol. 145, pp. 289-297, 2007, 査読有

[学会発表](計77件)

1. Saito A., Takayama Y., Moriguchi H., Kotani K., Jimbo Y., Developmental Effects of Low Frequency Magnetic Fields on P19-Derived Neuronal Cells, 31<sup>st</sup> Ann. Int. IEEE EMBS Conf., Minneapolis, 2 September 2009

2. Takayama Y., Moriguchi H., Saito A., Kotani K., Jimbo Y., Ensemble Stimulation of Embryoid Bodies using microfabricated ITO Substrates, 31<sup>st</sup> Ann. Int. IEEE EMBS Conf., Minneapolis, 2 September 2009

3. Moriguchi H., Tamai N., Takayama Y., Kotani K., Jimbo Y., Hierarchical oscillatory patterns observed in the spontaneous and evoked activity in cultured small recurrent networks, 6th FENS Forum, Geneva, 12 July 2008

4. Takayama Y., Saito A., Moriguchi H., Kotani K., Jimbo Y., Neurons derived from P19 embryonal carcinoma cells establish functional neuronal network, 6th FENS Forum, Geneva, 12 July 2008

5. Suzurikawa J. Nakao M., Jimbo Y., Kanzaki R., Takahashi H., Characterization of Response Patterns Evoked by Light Addressed Electrical Stimulation in Cultured Neuronal Network, 6th Int. Meet. Substrate-Integrated Microelectrodes, Reutlingen, 8 July 2008

[図書](計3件)

1. 神保, 高山, 分化誘導細胞によって形成した神経回路の電気活動, 神原, 松永, 植田編「シングルセル解析の最前線」分担執筆, pp. 88-94, CMC 出版 2010

2. 神保, 神経回路活動の計測, 合原, 神崎編「理工系からの脳科学入門」分担執筆, pp. 147-161, 東京大学出版会, 2008

3. 神保, 森口, 高山, 電極アレイシステムを用いる神経機能解析, 酒井, 民谷編「動物実験代替のためのバイオマテリアル・デバイス」分担執筆, pp. 31-38, CMC 出版 2007