

戦略的国際科学技術協力推進事業（日本－フィンランド研究交流）

1. 研究課題名：「ニューロフロイディックデバイス：構成的神経ネットワーク培養計測システムの構築」

2. 研究期間：平成24年 4月～平成26年3月

3. 支援額： 総額 15,000,000 円

4. 主な参加研究者名：

日本側（研究代表者を含め6名までを記載）

|              | 氏名    | 所属             | 役職      |
|--------------|-------|----------------|---------|
| 研究代表者        | 安田 賢二 | 東京医科歯科大学       | 教授      |
| 研究者          | 金子 智行 | 法政大学（東京医科歯科大学） | 教授（准教授） |
| 研究者          | 野村 典正 | 東京医科歯科大学       | 准教授     |
| 研究者          | 寺蘭 英之 | 東京医科歯科大学       | 助教      |
| 参加研究者 のべ 4 名 |       |                |         |

相手側（研究代表者を含め6名までを記載）

|              | 氏名             | 所属      | 役職       |
|--------------|----------------|---------|----------|
| 研究代表者        | Sami Franssila | アールト大学  | 教授       |
| 研究者          | Sari Lauri     | ヘルシンキ大学 | グループリーダー |
| 研究者          | Henri Huttunen | ヘルシンキ大学 | グループリーダー |
| 研究者          | Claudio Rivera | ヘルシンキ大学 | グループリーダー |
| 参加研究者 のべ 4 名 |                |         |          |

5. 研究・交流の目的

欧州における脳障害・疾患患者は全住民の27％に相当し、神経疾患に対しての医療費は3860億ユーロ（約40兆円）にもなる。さらに、人口の高齢化は急速に進んでおり、加齢に起因した神経変性疾患も急速に増大している。これらの疾患は、神経やシナプスの消失や機能障害に起因するものであるが、特に解決困難な問題は、臨床症状が顕在化するのは神経の消失が非常に進行した後になることである。これらシナプスの消失についての理解を進めるために、適切な計測方法が無いことが課題となっており、これら軸索等の神経突起の成長や再生、シナプスの特性変化を継続的に計測する技術の実現は、神経疾患の治療法開発に大きな寄与がなされるものと考えられている。

微細加工技術を駆使して細胞や組織を培養する技術の中で、微細加工技術を用いた細胞成長プラットフォームは、細胞ネットワークが持つ生物学的機能を再構築することを目指した新しいアプローチである。ここでは、構成的なアプローチによって細胞は所定の位置に配置され、また、制御された状態で結合を構築することで、細胞が集団化することで初めて獲得する「集団効果」を組み込んだより生体に近い細胞モデルを構築することが可能となる。

本プロジェクトでは、上記、組織・臓器の機能を再現する最小構成の細胞ネットワークモデルを構築することができる細胞成長計測プラットフォームを開発し、特に薬剤に対する神経応答の計測を可能にする技術の検討を進めた。神経ネットワークの構築には、その配

置の空間的制御によって再現性のあるネットワークパターンを構築し、この空間配置の中に3次元多電極アレイ等の3次元解析技術を組み込む。また、ヒト疾患モデルとなる神経細胞を構築し、神経細胞の成長・再生に関連して薬剤の効果や神経システムへの損傷について高速で解析することが可能な総合技術とすることを最終的な目標とする。

## 6. 研究・交流の成果

### 6-1 研究の成果

本プロジェクトでは、上記目的を達成するために、精力的に新規技術開発を推進した。

まず、複雑な神経細胞ネットワークの機能解析を可能にするために、従来の蒸着電極アレイによる計測電極数の限界を打破するために、より電極数と密度が高い電子カメラ用画像取得デバイス素子（CCD素子アレイ、およびC-MOSセンサアレイ）による最密充填型のセンサアレイ素子でバイスの検討を行い、この素子の表面へのコーティング技術、素子上での神経細胞培養等の検討を行い、その原理検討に成功した。

さらに、神経細胞を非侵襲に再回収することができる新しい細胞培養評価技術として、ポリアルギン酸とアガロースおよびPDMSを組み合わせたチップ上での3次元神経細胞ネットワーク構築技術の検討を推進し、その結果、3次元微細構造中に神経細胞ネットワークを3次元に構築し、その3次元構造中の各細胞の一部をセンサアレイ素子表面に微細構造によって誘導し、擬似的に3次元構造中での神経ネットワークの一細胞レベル計測技術の開発に成功した。また、3次元神経細胞ネットワーク中での一細胞刺激技術についてもアガロース中およびポリアルギン酸中に、タングステン微小針を導入し、これによって局所刺激することで、3次元に配置された神経細胞の局所刺激が実現できることを確認した。

また、ポリアルギン酸層の表面への細胞接着性を改善するため、ゾル状態のポリアルギン酸にコラーゲンを加えてゲル化することで、神経細胞接着性を維持した微小流路内面修飾技術の開発に成功した。本コラーゲン添加ポリアルギン酸レイヤーは、カルシウムキレート剤の添加によって、局所溶解が可能であるため、Caged-Caを用いて、マイクロ流路中の局所に集束紫外線を加えることで、ミクロンオーダーでの局所ポリアルギン酸除去と、これに伴う3次元構造の追加加工の可能性を確認することに成功した。

また、上記、センサアレイデバイスを用いた画像取得解析回路による解析技術の検討も行い、この回路のデータ解析を行うソフトウェアの開発も引き続き推進した。特にデバイス表面の高分子での修飾技術を改善することによって、神経細胞ネットワークでの刺激伝搬について、神経突起レベルでは計測は困難であったが神経細胞体レベルであれば、空間分解能を持って計測可能であることを確認することができた。また、高速カメラ用データ取得回路を用いることによって、従来の画像記録、解析ソフトウェアによって神経の発火パターンの解析が可能であることも確認することに成功した。

### 6-2 人的交流の成果

初年度より、日本側リーダー、フィンランド側リーダーが、プロジェクト開始の早期に相互に訪問をしてセミナーを開催するとともに、双方の技術について確認を行い、またプロジェクトの進め方について学生およびスタッフたちと技術討論を行っていたが、当初計画していた、日本側技術の習得のためのフィンランド側からの学生の日本側への案件については、東日本大震災後の放射能汚染のリスクの話題がフィンランドで議論されることとなり、フィンランド側学生の両親の意向として中止することとなり、学生を中心とした技術移転等の人的交流については制約があった。

7. 主な論文発表・特許等（5件以内）

相手側との共著論文については、その旨を備考欄にご記載ください。

| 論文<br>or<br>特許 | ・論文の場合： 著者名、タイトル、掲載誌名、巻、号、ページ、発行年<br>・特許の場合： 知的財産権の種類、発明等の名称、出願国、出願日、<br>出願番号、出願人、発明者等                                                                                                                                                         | 備考 |
|----------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 特許             | 標的細胞表面の標的分子に特異的に結合する核酸の選択法，日本国，2011年5月13日，特願2011-108571，（財）神奈川科学技術アカデミー、(株) オンチップ・セロミクス・コンソーシアム、国立大学法人 東京医科歯科大学，安田賢二、寺藺英之、金賢徹、林真人、服部明弘.                                                                                                        |    |
| 特許             | 細胞配置装置および方法，日本国，2012年3月29日，特願2012-077196，（財）神奈川科学技術アカデミー、東京医科歯科大学、（社）オンチップセロミクスコンソーシアム，安田賢二、寺藺英之、服部明弘、金 賢徹.                                                                                                                                    |    |
| 特許             | 細胞機能制御方法，日本国，2012年3月29日，特願2012-077207，（財）神奈川科学技術アカデミー、東京医科歯科大学、（社）オンチップセロミクスコンソーシアム，安田賢二、寺藺英之、金 賢徹、林 真人、服部明弘.                                                                                                                                  |    |
| 論文             | Hyonchol Kim, Hideyuki Terazono, Masahito Hayashi, Hiroyuki Takei, Kenji Yasuda. Highly Sensitive Detection of Target Biomolecules on a Cell Surface Using Gold Nanoparticle Conjugated with Aptamer Probe. Jpn J Appl Phys, 51, 06FH01, 2012. |    |
| 論文             | Terazono H, Kim H, Hayashi M, Hattori A, Nomura F, Kaneko T, Yasuda K. A Non-Destructive Culturing and Cell Sorting Method for Cardiomyocytes and Neurons Using a Double Alginate Layer. PLoS ONE, 7(8), e42485, 2012.                         |    |