

電場刺激による培養神経回路の時空間的活動パターン制御

指導教員 高橋 宏知 講師
機械情報工学科 03120289 安田 秀策

1. 背景と目的

神経細胞の形成するネットワークの活動はカオス的と言われているが[1], そのような系が身体制御などの秩序ある出力を示す機序は, いまだ解明されていない. この情報処理機構を説明し得る機械学習モデルとして, FORCE 学習が提案された[2]. この機械学習のモデルが, 実際に神経細胞が構成する情報伝達ネットワークに適用できるかを調べることで, 混とんとした活動をする脳が秩序ある身体制御を生成する機構を解明する手がかりになることが期待される.

FORCE 学習を実際の神経細胞のネットワークで実現するために, 神経細胞の多点同時観測系, 神経細胞への電場刺激系の二つを統合した刺激観測系の構築を目指す. 電場刺激系には, ネットワーク全体で同時に神経細胞の活動を誘発できる平行平板電極を用い, 多点同時計測系には, 多点電極アレイを用いる.

本研究では, 神経細胞の分散培養系に対して, 電場刺激を用いた全体刺激系を設計し, 神経細胞ネットワークの活動を, カルシウムイメージング法と多点電極アレイで計測する.

2. 実験方法

本研究では, 電場刺激と細胞観測を同時に行える実験系を作成し(図1), 異なる三つの実験を行った.

実験1. 培養神経細胞に対して電場のパルス幅の条件を変えて電場刺激を行い, 細胞の応答をカルシウムイメージング法により観測した.

実験2. 培養神経細胞に対して, 水平方向と垂直方向に電場刺激を行い, 各神経細胞の電場刺激に対する方位選択性を, カルシウムイメージング法を用いて調べた.

実験3. 電場刺激後の神経細胞の電気生理的応答を多点電極アレイで観測するために, 電場刺激の強度とパルス幅を変更し, 多点電極アレイでの観測に適した電場刺激条件を調べた.

3. 実験結果と考察

実験1. カルシウムイメージング法では電場に対して即応する細胞を観測することはできなかった. しかし, ネットワークの活動として, 有意な細胞の輝度変化の数に着目したところ, パルス幅が200msの時にはネットワーク全体の活動がコントロール時と比べ49%上昇する傾向にあった(図2左). ただし, 時間の経過による細胞の応答変化の評価が不十分であるため, 追実験が必要である.

実験2. 電場に対する応答の分布が変化したことが観測された(図2右). ただし, 実験1と同様に電場に対して即応する神経細胞が観測されなかったこと, 時間の経過による細胞の応答変化が予想される. したがって, 細胞が即応する電場強度とパルス幅を調べること, 細胞の応答分布の変化を定量的に評価できる基準を作成する必要がある.

実験3. 電場刺激によって, 全電極で最大500ms程度観測できなかった. 電場刺激によるノイズ量は刺激のパルス幅に依存し, 実験1と実験2を踏まえると, ネットワークの活動に変化が生じた20ms-200msのパルス幅では, 電場刺激直後の神経細胞の活動電位を観測することは難しく, 刺激方法を改善する必要がある. 改善方法として, 電場の強度を強くしてパルス幅を小さくすることなどが考えられる(図3).

5. 結論

本研究では, 神経細胞の分散培養系に対して, 電場刺激を用いた全体刺激系を設計し, 神経細胞ネットワークの活動を, カルシウムイメージング法と多点電極アレイで計測した. その結果, 以下のことが分かった.

(1) カルシウムイメージング法では電場刺激に即応する神経細胞は観測できなかったが, 細胞ネットワークの活動は有意な輝度変化の数に着目すると, 電場刺激のパルス幅が200msのとき49%上昇することを示唆する結果となった.

(2) 電場刺激の方向によって細胞の応答分布は変化したが, 時間的変化と有意な差であるか比較する必要がある.

(3) 多点電極アレイでは, 電場刺激の影響により, 刺激直後の反応を計測することができなかった. したがって, 細胞を刺激可能かつ電

極による計測が可能な刺激パラメータを検証する必要がある.

以上より, 電場刺激に対して神経細胞がネットワークレベルで応答することが確認された. また, 刺激観測系を構築するための新たな指針を得ることができた.

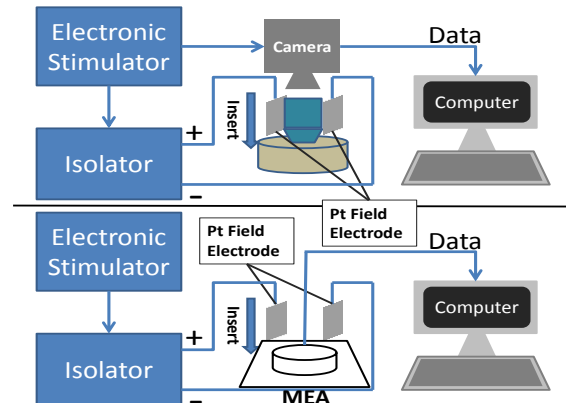


図1 (上図) カルシウムイメージングを用いた電場刺激観測系, (下図) 多点電極アレイを用いた電場刺激観測系

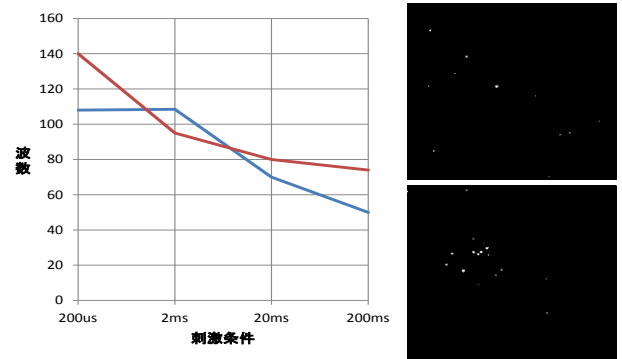


図2 (左図) 刺激時(赤)とコントロール(青)の輝度変化数の比較, (右上図) 横方向電場刺激応答, (右下図) 縦方向電場刺激応答

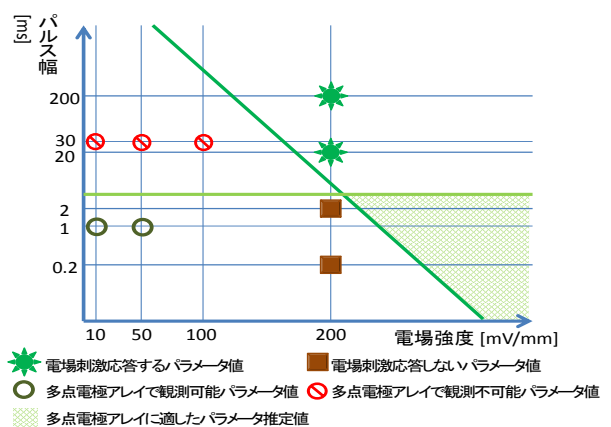


図3 実験1及び実験3から推測される, 多点電極アレイを用いた電場刺激パラメータの適正範囲

参考文献

- [1] Y. Jimbo, a Kawana, P. Parodi, and V. Torre, "The dynamics of a neuronal culture of dissociated cortical neurons of neonatal rats.," *Biol. Cybern.*, vol. 83, no. 1, pp. 1-20, Jul. 2000.
- [2] D. Sussillo and L. F. Abbott, "Generating coherent patterns of activity from chaotic neural networks.," *Neuron*, vol. 63, no. 4, pp. 544-57, Aug. 2009.