

培養神経回路の同期バーストの発生を担う細胞群の探索

機械情報工学科 03-140287 古池 香里
指導教員 高橋 宏知 講師

1. 研究の背景

神経回路では個々の細胞がランダムに発火している。しかし、しばしば複数の細胞が一斉に、高頻度で発火する。これを「同期バースト」と呼ぶ。同期バーストは様々なパターンを自発的に繰り返し、脳の情報処理に大きく寄与していると考えられているが、その発生メカニズムは明らかにされていない。もしバーストを発生させる源となる細胞群を同定できれば、同期メカニズムの解明に大きく貢献できる。同期バーストは培養した神経回路でも自発的に起こり、また電気刺激に対しても生じ得ることが知られている。しかし既存の研究で使用された電極アレイは空間解像度が低く、局所的な電気刺激は難しかった。当研究室で使用している高密度 CMOS 電極アレイは細胞レベルの空間解像度を有し、単一細胞へ選択的な刺激が可能である。

2. 目的

本研究では、以下の2つの目的を設定した。

- ①高密度 CMOS 電極アレイを用いた実験系を構築し、同期バーストを誘発する細胞群を同定する。
- ②同定した細胞群への電気刺激が、神経回路内に保存された情報(同期バーストパターン)を想起させるかを検証する。

3. 方法

2.0×1.75 mm² に 11,011 個の電極を持つ高密度 CMOS 電極アレイ上でラット胎児の脳皮質を培養した。

同期バーストを誘発する細胞群の同定は次の方法で行った。まず、高密度 CMOS 電極アレイ上の活動電位をスキャンし、細胞位置を推定した。次に、活発な活動をしている細胞に観測用の電極を配置した。刺激用電極は、推定された細胞位置から複数の細胞を選び、その周りに複数配置した。刺激は±200 mV の正圧先行二相性パルスで 5~10 秒間隔でランダムに与え、D. Bakkum ら(2014) [1] の手法により同期バーストを検出して 20 ms 以内に同期バーストが発生したものを誘発バーストとした。始めに、配置した刺激電極全てを刺激し、誘発率(誘発バースト/刺激回数)が 0.7 以上なら 1 つ 1 つの細胞周りを、再び誘発率が 0.7 以上なら 1 つ 1 つの電極を刺激し、同期バーストを誘発する電極を同定した。配置した刺激電極全てに刺激して誘発率が 0.7 未満だった場合は別の細胞周りに刺激電極を配置し、同様の試行を繰り返した。

同期バーストパターンの比較は、同期バーストパターンの特徴ベクトルを定義して、そのコサイン類似度を取った。特徴ベクトルは、バースト開始から自発バーストの平均時間分を 10 ms ビンに区切り、各ビンでの発火数を各観測電極について数え、並べたものと定義した。誘発バーストとの比較に用いる自発バーストは、刺激前に行った 30 分間の測定中に生じた同期バーストとした。

クラスタリングは、J. Beggs & D. Planz(2004) [2] の手法を用いた。

4. 結果

全ての試料(N = 4)について同期バーストを誘発する単一電極を同定した。続いてパターン解析を行った。図(a)

は自発バーストのクラスタリング結果である。これに、同定した電極を 250 回(約 30 分間)の刺激した誘発バーストを加えてクラスタリングを行った結果、図(b)を得た。刺激時間中に発生しているパターンが 1 種類である可能性を考慮して、刺激時間中に発生した誘発バースト以外のバーストパターンと自発バーストのクラスタリングを行ったところ、刺激時間中には誘発バーストとは別クラスタに含まれるパターンも見られた(図(c))。

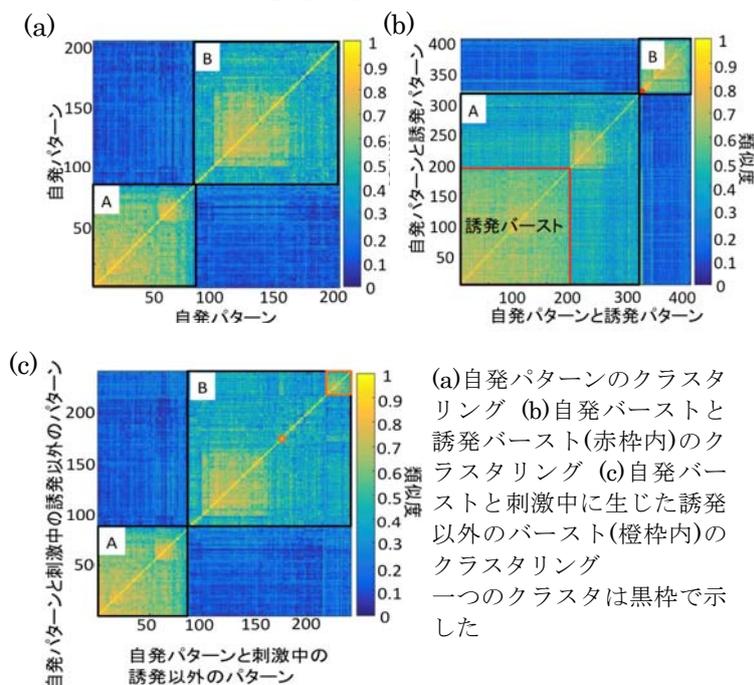
5. 考察

探索により、同期バーストは単一電極刺激によって誘発できることが分かった。誘発した同期バーストが自発バーストパターンの一部と類似度が高いことから、回路内に保存されている情報は特定位置への電気刺激により想起可能であることが示唆される。しかし、刺激箇所が細胞体とはならず、軸索である可能性もあり、今後は同定した位置がどのような特徴を持っているかの解明が課題となる。

6. 結論

本研究では以下の結論を得た。

- ①全ての試料(N = 4)で同期バーストを誘発する単一電極を同定できた。今後はその点の特徴の解明が求められる。
- ②自発バーストは様々なパターンのうちの一部は同期バーストのパターンと高い類似度を示した。この結果から、神経回路のある特定位置を電気刺激することで、回路内に保存された情報を想起できることが示唆される。



[1] D. Bakkum et al. "Parameters for burst detection" *Front. Comput. Neurosci.* Vol. 7, pp. 1-12, 2014

[2] J. Beggs et al. "Neuronal Avalanches Are Diverse and Precise Activity Patterns That Are Stable for Many Hours in Cortical Slice Cultures" *J. Neurosci.*, Vol. 24, pp. 5216-5299, 2004