

超高時空間解像度の CMOS アレイ上における培養神経回路の機能ネットワークの解析

Analysis on Functional Network of Cultured Neural Network on High Spatiotemporal Resolution CMOS Array

三田毅 指導教員 高橋宏知講師

Takeshi MITA (Lecturer Hirokazu TAKAHASHI)

Keywords: High Density CMOS Array, Cultured Neuron, Network Analysis

1. 背景と目的

知能機械の実現に向け脳型情報処理に着目し、特に実際の神経細胞を用いた機能ネットワークの研究をしている。神経細胞には、分散培養神経細胞を用いる。分散培養神経細胞とは、脳の神経細胞の結合を酵素で分断し培養することで、神経細胞が自己組織的にネットワークを構築する系のことである。分散培養神経細胞での先行研究は多数あるが、測定技術の時空間解像度やSN比、培養可能な期間などの限界から、研究を精確に行うことは困難であった。

高精度な測定から脳や神経細胞の機能を明らかにすることを目指し、脳活動や神経活動の測定技術は盛んに研究開発されている。本研究で使用している高密度 CMOS アレイ[1]もその一つである。このデバイスは、神経細胞ネットワークの神経細胞一つ一つを複数同時に測定し、刺激入力も可能であり、時間分解能、空間分解能ともに世界最高レベルの特性を持つ。細胞体より小さい7 μm の電極を約2 \times 2 mm^2 内におよそ1万点有し、空間解像度は非常に高い(Fig.1)。また、時間分解能も最大20 kHzであるため、神経の電気的活動を測定するには十分な時間分解能を有する。

本研究では、神経細胞ネットワークの基本的な特性として、自発発火活動のみで形成されるネットワークが、情報に関して有意な構造を持つかを調べる。高精度な測定により、微小な発火活動しか現さない細胞を含めたネットワークの特性がどのようになるかを調べる。ここで、ネットワーク構造の有意性を考える指標として、スモールワールドがある。ネットワークがスモールワールドであれば、情報伝達の効率性と頑健性が両立されていると考えられる。従って、高密度 CMOS アレイで測定されたネットワークがスモールワールドになるか検証する。

2. 方法

2.1 実験

実験は「東京大学動物実験マニュアル」に則った。ラットの胎児から大脳皮質を摘出し、神経結合を酵素で分解後、

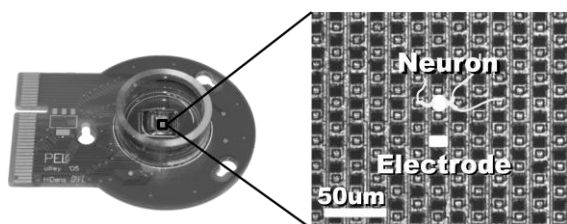


Fig.1 High Density CMOS Array

高密度 CMOS アレイ上で培養した。播種細胞数は5,000 cells / 20 μl の低い細胞密度と、60,000 cells / 20 μl の高い細胞密度とした。実験はDIV40日目で実施し、8時間にわたって自発発火活動を測定した。サンプリング周波数は20 kHzとし、活動電位はノイズレベルの5 σ を超える信号とした。さらに、活動電位の振幅の平均値を空間的に調べ、極大値を示した電極を細胞体の位置とした。

2.2 結合推定手法

機能的結合を推定するための手法として、相互情報量に基づく冗長性(Redundancy)[2]と、相互相関に基づく条件付発火確率(Conditional Firing Probability)[3]を使用する。冗長性を用いた文献[2]では、分散培養神経細胞の自発発火の機能的ネットワークは、スモールワールドであることが結論されており、手法を一致させるため、本研究でも用いる。また、推定手法による結果を比較するため、古典的に用いられる相互相関に基づく条件付発火確率を用いる。

2.3 ネットワーク特性

ネットワークの特徴量には固有パス長や平均パス長、クラスター係数が用いられることが多いが、今回の神経回路はスパースであるため、それらを適切に計算することができない。そこで、効率[4]を用いて評価を行った。ネットワーク全体に関する全体効率と、各ノード周辺の効率を平均した局所効率がある。それぞれ、ネットワークの効率性と頑健性の指標となる。

また、ネットワークの形態の類似度を比較する指標を使用した。ネットワークAとネットワークBの各結合数を N_A, N_B 、互いに一致する結合の数を $N_{A,B}$ とし、その類似度 $S_{A,B}$ を式(1)で定義する。類似度 $S_{A,B}$ は、0から1の値を取り、 $N_A = N_B = 0$ で定義できない。 $N_A = N_B = N_{A,B}$ のときのみ $S_{A,B} = 1$ となる。

$$S_{A,B} = \frac{N_{A,B}}{(N_A + N_B)/2} \quad (1)$$

3. 結果

3.1 平均次数とネットワークの効率

各推定手法で得られた結合強度に対し、しきい値を変化させることで平均次数を変化させた。そのときの平均次数とネットワークの効率の関係を Fig.2 に示す。スモールワールド・ネットワークのモデルの値を Fig.2 内に示し、スモールワールドとして知られる、他の神経ネットワークの値を Table. 1 に示した。それらと比較し、低細胞密度、高細胞密度ともに、特に全体効率が低い値を示す傾向が見られる。

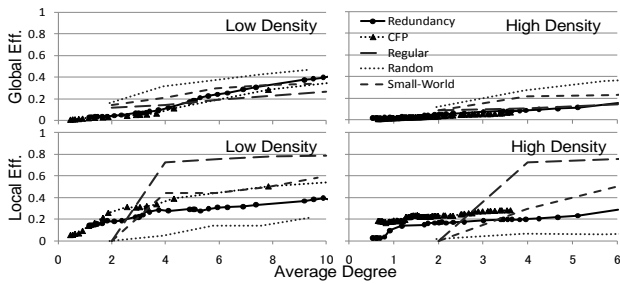


Fig. 2 Average Degree and Efficiency of Network

Table. 1 Comparison of Network Efficiency

| | Nodes | Avg. Deg. | Global | Local |
|-----------|-------|-----------|--------|-------|
| Macaque | 69 | 5.99 | 0.52 | 0.70 |
| Cat | 55 | 10.3 | 0.69 | 0.83 |
| C.elegans | 282 | 8.73 | 0.46 | 0.47 |

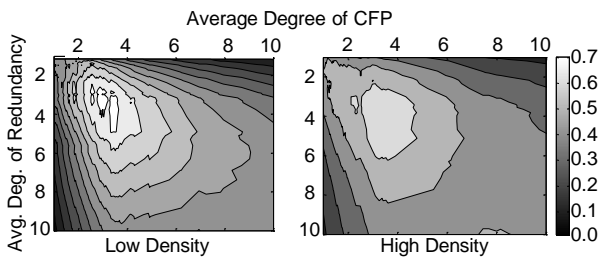


Fig. 3 Average Degree and Similarity of Network

3.2 基幹ネットワーク

ネットワークの特徴量は、二値化されたグラフから計算される。そのしきい値の決定にはネットワークの類似度を用いた。ネットワーク特性の他、推定された結合の統計量を比較しても、しきい値を決定するに足る基準は見出せなかったためである。細胞密度ごとの、平均次数と類似度の関係を Fig.3 に示す。低細胞密度、高細胞密度ともに、平均次数 3 近辺に類似度のピークがある。具体的に、ピーク値を取るネットワークの平均次数は、以下の通りである。

- ・低細胞密度：条件付発火確率で 2.9, 冗長性で 2.9
- ・高細胞密度：条件付発火確率で 3.1, 冗長性で 3.4

ここで、このネットワークを基幹ネットワークと呼ぶ。

3.3 細胞間距離と結合

基幹ネットワークにおいて、結合数と結合強度の細胞間距離に関する分布を調べた(Fig.4, 5)。Fig. 4 に示したように、低細胞密度、高細胞密度ともに、距離が近いほど結合も多く、その分布も大きく変わらない。冗長性では、800 μm , 1200 μm を超える距離にある細胞間でも結合があるが、全体効率へは寄与していない。また、Fig. 5 では、結合の有る細胞間の結合強度を示しているが、いずれの条件でも、1000 μm を超える距離の結合は、存在しないか、弱く、距離が短いほど強い結合を持つ傾向がある。

4. 結論と考察

サンプル数が少ないため、結果は限定的であるが、高精度に測定することで、これまでスモールワールドであると考えられていた自発発火活動で形成されたネットワークは、スモールワールドではない可能性が示された。基幹ネット

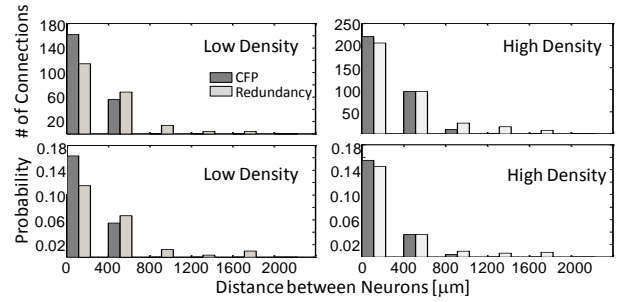


Fig. 4 Distribution of Connections along Distance between Neurons (Probability: Rate of the number of detected connections against the number of all possible connections)

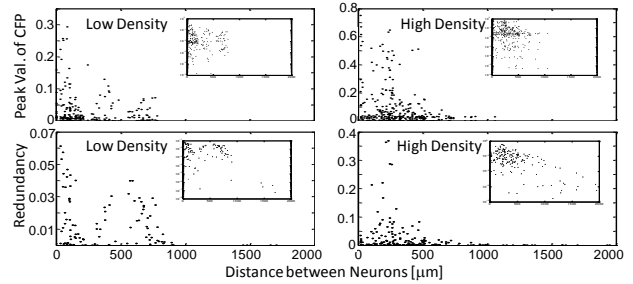


Fig. 5 Peak Value of Conditional Firing Probability (CFP) and Redundancy. Inset is the same except the y axis is log scale.

ワークの平均次数は、他のスモールワールド・ネットワークに比べて低いが、微小な活動しか示さない細胞を測定していることが影響していると考えられる。また、同時に以下の差異も影響している可能性がある。(1) Table.1 は解剖学的ネットワークのデータである、(2) 刺激を入れることで、ネットワーク特性は変化する可能性がある。

5. 展望

今後、サンプル数を増やすことはもちろんのこと、ネットワークに刺激を入れることで特性が変わるか、ネットワークがどのように発達しているかを調べる。神経細胞ネットワークの発達、記憶や学習などの基盤となる。発達に続き、記憶と学習における情報表現やその変化に関する研究を進め、神経細胞ネットワークと情報の間にある支配則を見出すことを試みる。

参考文献

- [1] U. Frey, et al., "Switch-matrix-based high-density microelectrode array in CMOS technology", *Solid-State Circuits, IEEE Journal of*, vol. 45, (2010), pp.467-482.
- [2] L. Bettencourt, et al., "Functional structure of cortical neuronal networks grown in vitro": *Physical Review E*, vol. 75, (2007), pp.1-10
- [3] J. L. Feber, et al., "Conditional firing probabilities in cultured neuronal networks: a stable underlying structure in widely varying spontaneous activity patterns.," *Journal of neural engineering*, vol.4, (2007), pp.54-67.
- [4] V. Latora and M. Marchiori, "Efficient Behavior of Small-World Networks": *Physical Review Letters*, vol.87, (2001), pp.3-6