

高密度 CMOS アレイ上の培養神経回路の神経雪崩現象の発達過程

Time course of development of neuronal avalanche of cultured cortical network on high density CMOS array

眞田 章広, 高橋 宏知 講師 Akihiro SANADA, Hirokazu TAKAHASHI

cultured neuronal network, neuronal avalanche, self-organized criticality, neuronal network development, CMOS array

1. 序論

脳の情報処理において、神経細胞間の同期は重要な役割を果たしている可能性が高い。Beggs ら [1] は複数のニューロンの同期的活動パターンにおいて、頻繁に発生する特定の活動パターンが存在することを示した。繰り返される活動パターンが時間的に安定していることは、活動パターンが記憶などの情報保持に関与することを示唆している。また Beggs ら [2] は、活動パターンの規模の確率分布が規模に対する冪分布になることを示し、このような分布を示す活動パターンを、同様の確率分布を示す雪崩に例えて神経雪崩 (neuronal avalanche) と呼んだ。上記のような確率分布において、情報伝達が最適化されることが主張されている [2]。一方、未成熟なネットワークにおいては神経雪崩の規模の確率分布は必ずしも冪分布に従わないこと、成長に伴い規模分布が冪分布に近づいていくことが知られている [3]。神経細胞間に機能結合が存在しない場合、神経雪崩の規模分布は指数分布に従うと予想できるが、Tetzlaff ら [3] は、培養開始から 14 日後には、規模の確率分布が既に冪分布にしたがうことを示した。培養開始 13 日以前の幼若なネットワークについては十分な先行研究が行われていないが、その背景として、従来の計測機器の空間解像度が神経細胞のスケールに対して粗いことが挙げられる。そこで本研究は従来の計測機器に比べて空間解像度の高い高密度 CMOS アレイを用いて幼若な分散培養神経回路網の活動電位を計測し、ネットワークの成長に伴う神経雪崩の規模の確率分布の変化を調べた。

2. 方法

2.1 培養神経回路網の活動電位の計測

胚齢 18 日目のウイスターラットの胎児の大脳皮質を取り出し、高密度 CMOS アレイ上で分散培養した (Fig.1)。播種細胞数は 35000 ~ 40000 細胞であった。培養開始から 4 日後から、各電極の電位変化を経日的に計測した。サンプリング周波数は 20kHz とした。計測された電位から、電位の高低差を用いて細胞の活動電位を検出した。本稿で用いた高密度 CMOS アレイは約 2mm×2mm の領域に 11011 点の電極を有するが、同時に計測できるのは 126 点である。そこで全電極で 1 分ずつ計測を行い、ガウシアンフィルターを用いて発火 (神経細胞が活動電位を発生すること) 頻度の空間マップを算出し、そのピーク付近の電極で計測を行った。

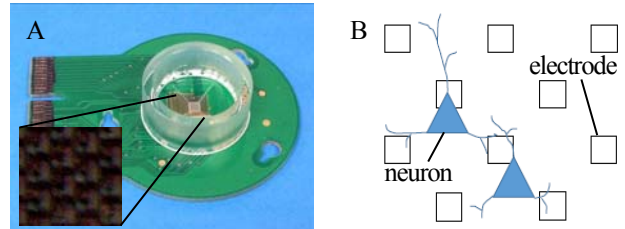


Fig.1 A, High density CMOS array. B, Schematic diagram of a neuronal network on a CMOS array.

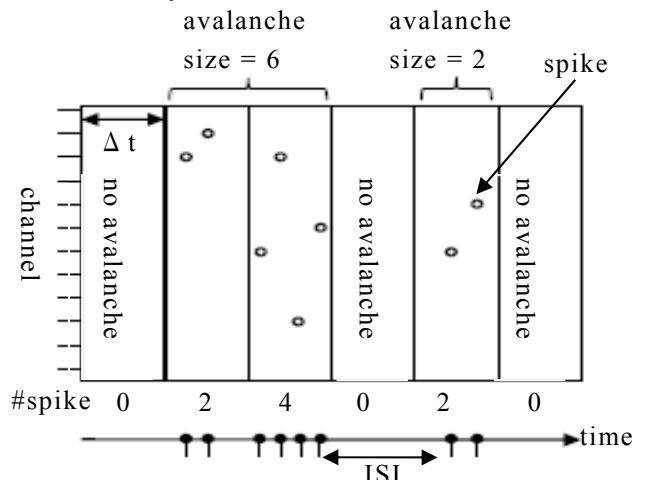


Fig.2 Raster plot sketch showing how spikes are grouped into avalanche.

計測時間は 30 分とした。また、シナプスブロッカーを投与し、その前後の規模分布の変化を調べた。

2.2 解析

各電極から得られた活動電位の時系列データの模式図を Fig.2 に示す。時系列データを用いて、神経雪崩のクラスタリングを以下のように行った。時系列データを Δt ごとに区切り、その区画に含まれる活動電位の数を計算した。活動電位が含まれない区画で囲まれた、活動電位を含む区画を、単一の神経雪崩と定義した。神経雪崩の規模は、その神経雪崩に含まれる活動電位の数の合計と定義した。 Δt は各神経回路網で検出された全ての活動電位の時間間隔 (ISI: inter spike interval) の算術平均値とした。近似曲線 (指数関数、冪関数) に対する決定係数、神経雪崩の規模を昇順に並べたときの最大の対数間隔を用いて分布の形状を評価、分類した。近似曲線の算出および決定係数の計算には、規模が 1 ~ 40 活動電位の神経雪崩のデータを用いた。

3. 結果および考察

神経雪崩の規模の確率分布はおおまかに、A: 指数分布、B: 二峰性分布、C: 冪分布の 3 種類に分類できた (Fig.3)。播種後の経過日数 (DIV) と

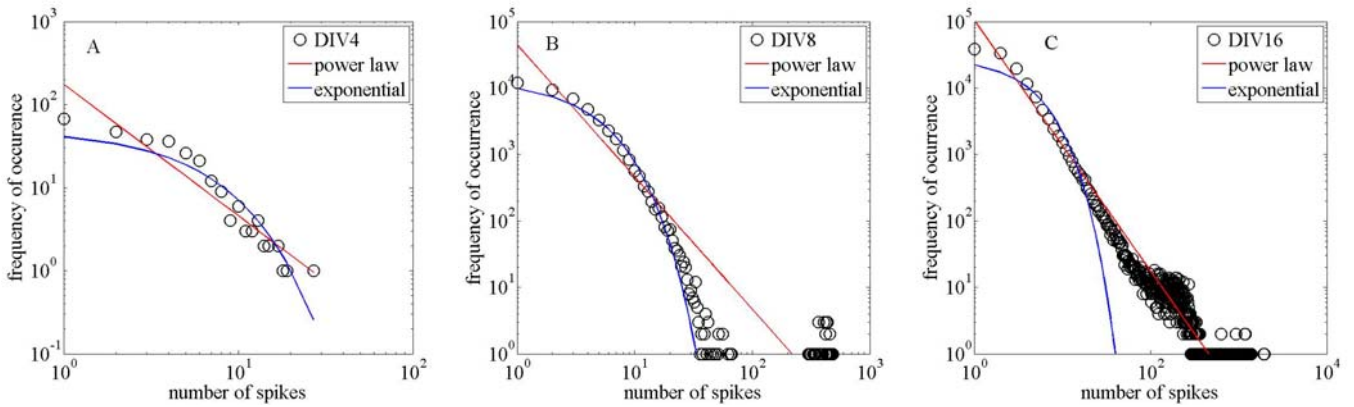


Fig.3 Three type of probability distribution of scale of neuronal avalanche during maturation.

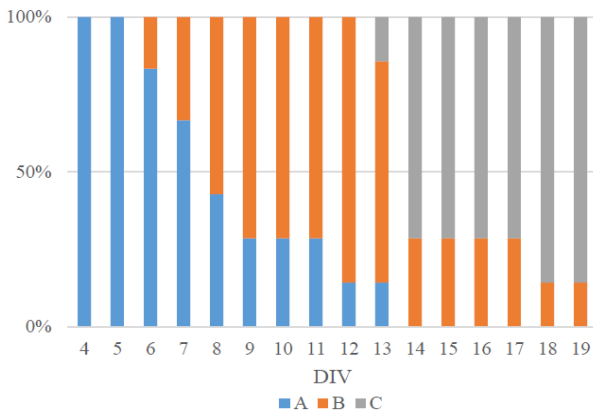


Fig. 4 Time course of the proportion of avalanche types.

各サンプルの確率分布の種類割合の推移を Fig.4 に示す ($n = 3 \sim 7$). 3 種類の分布は, 成長に伴い A, B, C の順に変化する傾向が見られた. C の確率分布は多様な規模の神経細胞が発生していることを示しており, 先行研究でも同様の分布が観測された. このような神経雪崩現象の確率分布は成熟した神経回路網で観測されることが知られており, このとき結合強度の分布も冪分布にしたがうことが知られている [4]. 一方, A の確率分布は神経回路網における神経細胞間の結合が弱く, 個々の神経細胞がランダムに活動していることを示唆している. この推論は, 十分に成熟した神経回路網にシナプスブロッカーを投与したところ, 神経雪崩の規模の確率分布が C の分布から A の分布へ変化すること (Fig.5) によっても支持される. A と C の分布の過渡期にあたる B の確率分布を示した神経回路網は, 個々の神経細胞間に機能結合が形成される過程にあると考えられる. この過程では, ランダムな活動の結果と考えられる指数分布にしたがう神経雪崩と, 大規模な神経雪崩の両方が観測された. このことは, 神経回路網の発達過程において, 神経細胞が全結合となる状態を経ることを示唆している. 全結合状態から, 結合の刈込みと局所的な結合の生成によって, C のような活動分布をもつ神経回路網が生成される可能性がある.

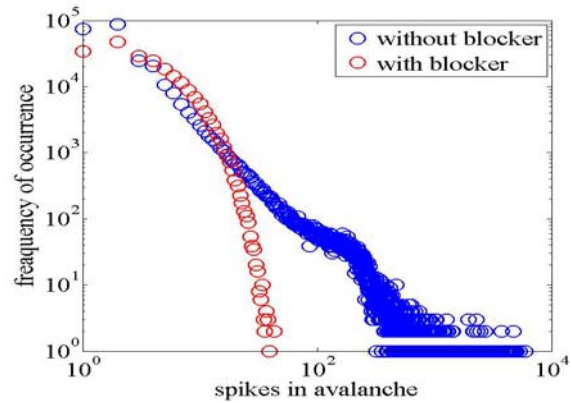


Fig. 5 Effect of synapse blocker on neuronal avalanche ($n = 1$).

5. 結論

神経雪崩の規模分布は, 指数分布から二峰性の分布を経た後, 冪分布となる. これは, 神経回路網の形成過程において, 結合が無い状態から, 全結合状態を経た後に, 多様な結合パターンが形成されることを示唆している.

参考文献

- [1] Beggs, J. and Plenz, D., “Neuronal avalanches are diverse and precise activity patterns that are stable for many hours in cortical slice cultures”, *J. Neurosci.*, Vol.24, No.22, (2004), pp.5216-5229.
- [2] Beggs, J. and Plenz, D., “Neuronal avalanches in neocortical circuits”, *J. Neurosci.*, Vol.23, No.35, (2003), pp.11167-11177.
- [3] Tetzlaff, C. *et al.*, “Self-Organized Criticality in Developing Neuronal Networks”, *PLoS Comput. Biol.*, Vol.6, No.12, (2010), e10001013.
- [4] Thivierge, J. “Scale-free and economical features of functional connectivity in neuronal networks”, *Phys. Rev. E*, Vol.90, No.2, (2014), 022721
- [5] Pasquale, V. *et al.*, “Self-organization and neuronal avalanches in networks of dissociated cortical neurons”, *Neuroscience*, Vol.153, No.4, (2008), pp.1354-1369.