

# 神経細胞の分散培養系によるリザーバー計算

安田秀策、高橋宏知

Reservoir computing, FORCE learning, cultured neuron, multi-electrode array, laser stimulation, burst suppression

## 1. 序論

生物は神経回路に様々な運動パターンを記憶しており、それらの組み合わせで適切な運動パターンを生成すると考えられている。その計算原理として、リザーバー計算の一種である FORCE (first-order reduced and controlled error) 学習[1]が注目されている。FORCE 学習では、リカレント・ニューラルネットワークにフィードバック信号を与えながら時系列パターンを抽出する。各細胞の活動の線形和を出力とし、出力値に比例した強度のフィードバックを各細胞に与える。各細胞からの線形和の重みを最適化すれば、任意の時系列パターンを抽出できる。しかし、FORCE 学習が実際の神経回路で実行可能かは未だ検証されていない。

本研究では、FORCE 学習を神経細胞の分散培養系で構築し、任意の時系列パターンを抽出することを目指す。また、この系を利用して FORCE 学習で移動ロボットを制御し、迷路課題の解決を試みる。

## 2. 実験システムの構築

図 1 (a)に構築した実験システムを示す。神経細胞を多点電極アレイ上で分散培養し、取得した信号から神経活動を検出する。神経活動の線形和を出力とし、ケージド化合物を用いた光刺激で出力信号を神経回路にフィードバックする。

### 2.1 分散培養系と計測系

胎齢 18 日の胎児の皮質を取り出し、分離した神経細胞を多点電極アレイ上に播種した。培養方法は、先行研究[2]の方法を一部改変した。実験では、成熟した状態 (DIV25 以上) の培養神経回路を用いた。

神経活動の計測に、多点電極アレイを用いた。計測用ソフトウェアには MEA Bench[3]を用いた。

### 2.2 フィードバック刺激系

培養神経回路のフィードバック刺激には、ケージド化合物の RuBi-Glutamate を用いた[4]。光の照射には、波長 473 nm、出力 500 mW のレーザー光を利用した。レーザー光は、デジタルミラーデバイスに反射させて制御した。

### 2.3 計算処理

計測用ソフトウェアで検出された神経活動は、計算用コンピュータに TCP 通信で送信される。計算用コンピュータでは、デジタルフィルタを用いて各電極の発火率を逐次計算し、指数平滑化している。この値を線形和し、それぞれの重み

を再帰最小二乗法で最適化することで、目標関数に対する誤差を最小にしている (図 1 (b))。

## 3. 培養神経回路による FORCE 学習

### 3.1 フィードバック刺激系の評価

培養神経回路への適切な刺激パラメータを同定するために、レーザー刺激系を評価した。

まず、レーザー刺激に用いる RuBi-Glutamate の濃度と、刺激にตอบสนองする発火の再現性を比較した。その結果、培養液中の RuBi-Glutamate 濃度の増加に対して、 $1.4256 \times 10^{-3} \mu\text{M}^{-1}$  の割合で刺激応答の再現性が向上した。この結果から、実験中の RuBi-Glutamate 濃度は  $100 \mu\text{M}$  とした。

次に、レーザー刺激における照射時間と応答強度の関係を調べた。刺激の応答強度は、各試行の刺激直前の 1 秒間の発火率を基準とし、20 試行の発火率の Z-スコアとした。その結果、刺激の照射時間が長いほど、刺激応答の Z-スコアの極大値が大きくなった (図 2)。これらの評価実験から、フィードバック刺激の強度は、レーザーの平均照射時間で調整することとした。

### 3.2 FORCE 学習の実現

FORCE 学習により、培養神経回路から定数値を抽出することを試みた (図 3)。学習中は、神経活動から出力を抽出する重みを逐次的に更新

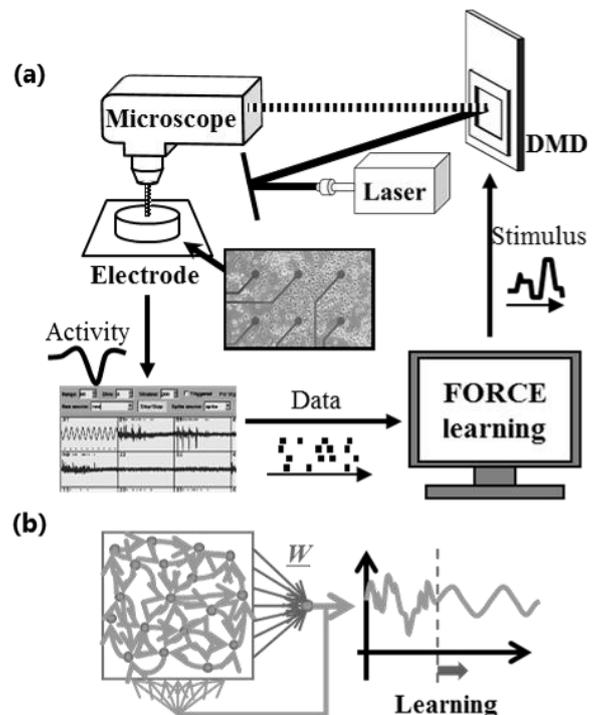


Fig. 1 Feedback system of FORCE learning with cultured neurons

(a) Feedback system with cultured neurons  
(b) Schematic diagram of FORCE learning

する(図3(b)). 同図から, 60秒の学習により重みが決定的な後, 神経回路から定数値が抽出されたことがわかる.

### 3.3 同期発火の抑制

上記実験では, 一部の試行で学習が不安定になった. その原因として, 培養神経回路の同期発火が FORCE 学習の収束を阻害していることが観測された. そこで, 光刺激を高周波数でランダムに付加することで同期発火の抑制を試みた[5]. 同期発火を抑制するために, 5個の  $200 \times 200 \mu\text{m}$  の光パターンを任意の位置に 20 ms ごとに提示した. その結果, 抑制刺激中の同期発火が, 刺激前に比べて減少した(図4).

フィードバック刺激の頻度が高い場合(50 Hz)

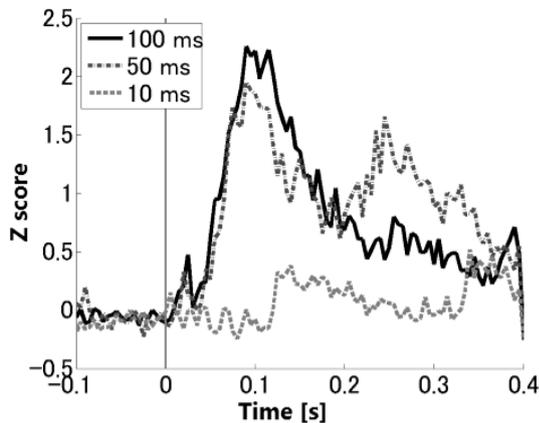


Fig. 2 Stimulus response against different stimulus duration

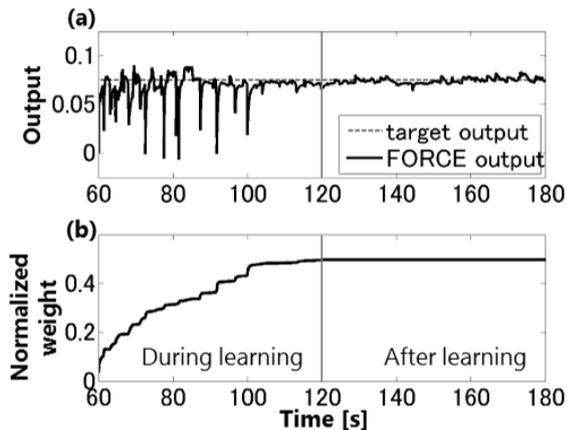


Fig. 3 FORCE learning with cultured neurons  
(a) Output (b) Convergence of weights during learning

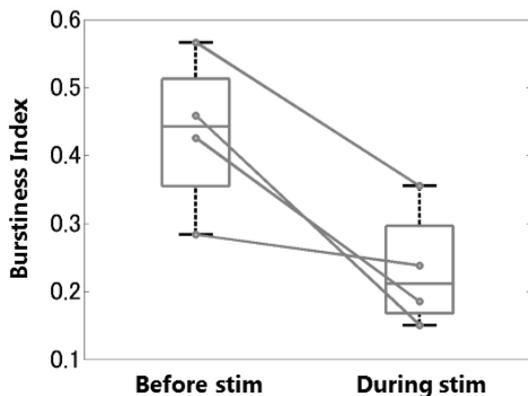


Fig. 4 Effect of burst suppression

と低い場合(10 Hz)について, 同期発火の抑制が学習成績に与える影響を調べた. その結果, 低頻度のフィードバックでは, 同期発火の抑制で学習誤差が減少した. しかし, フィードバック刺激の頻度によらず, 同期発火の抑制のために刺激を加えることで, 時間とともに出力が発散しやすい傾向が認められた.

これらの結果から, 培養神経回路を用いた FORCE 学習では, 学習性能の向上に同期発火の抑制が有効だが, 抑制のためのランダム刺激は学習に悪影響を及ぼすことがわかる. これらのトレードオフを考慮して, 最適なフィードバック刺激方法を確立することが今後の課題である.

### 3.4 移動ロボット制御

培養神経回路による FORCE 学習を用いて, 移動ロボットによる迷路課題の解決を試みた. ロボットが直進するように FORCE 学習を行い, ロボットの進行方向から  $90^\circ$  の範囲より目標物体がそれた場合, またはロボットが壁に接触した場合に, 培養神経回路に電気刺激を付加した. その結果, ロボットは電気刺激によって方向転換し, 目標物体に到達することが出来た.

## 4. 結論

本研究では, 多点電極アレイによる計測系と, ケージド化合物を利用したレーザ刺激系を統合して, 神経細胞の分散培養系に FORCE 学習を実装した. さらに, この系で移動ロボットを駆動し, 培養神経回路が, 迷路のような目的指向型の課題を解決できることを示した. これらの結果は, FORCE 学習が培養神経回路で実行可能であり, 神経回路と組み合わせることで生物の身体モデルとして機能することを示唆している.

## 参考文献

- [1] 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.
- [2] 大川知, 三田毅, D. Bakkum, U. Frey, A. Hierlemann, 神崎亮平, 高橋宏知, "成熟した培養神経回路のネットワーク形状と活動の経時変化," *電気学会論文誌 C*, vol. 134, no. 3, pp. 338–344, 2014.
- [3] D. Wagenaar, T. B. Demarse, and S. M. Potter, "MeaBench: A toolset for multi-electrode data acquisition and on-line analysis," *Proc. 2nd Int. IEEE EMBS Conf. Neural Eng.*, pp. 518–521, 2005.
- [4] E. Fino, R. Araya, D. S. Peterka, M. Salierno, R. Etchenique, and R. Yuste, "RuBi-Glutamate: Two-Photon and Visible-Light Photoactivation of Neurons and Dendritic spines.," *Front. Neural Circuits*, vol. 3, no. May, p. 2, Jan. 2009.
- [5] D. Wagenaar, R. Madhavan, J. Pine, and S. M. Potter, "Controlling bursting in cortical cultures with closed-loop multi-electrode stimulation.," *J. Neurosci.*, vol. 25, no. 3, pp. 680–8, Jan. 2005.