

培養神経細胞の集団同期発火パターンを生成するネットワーク構造

鹿山 敦至、高橋 宏知

キーワード : 多点電極アレイ, ラット大脳皮質分散培養系, 発達過程, 同期発火, 結合推定

1. 研究背景・目的

神経細胞ネットワークの集団的な時空間発火パターンは、脳における情報の符号化、伝達、処理に関わっている[1]. それらのパターンには、再現性(記憶)と階層性(複数の異なる記憶)が存在することが知られている. しかしこれらが、どのようなネットワーク構造によって実現されるのかは明らかではない. そこで本研究では、ラット大脳皮質の分散培養系の集団的な同期発火(バースト)を高密度多点電極アレイで計測し、(i) 神経細胞ネットワークが生成する同期発火の時空間発火パターンの再現性・階層性が、どのようなネットワーク構造に関係しているかと、(ii) 神経細胞ネットワークの発達に伴い、どのように同期発火の再現性・階層性とネットワーク構造が変化するかを明らかにすることを目的とする.

2. 手法

2.1 解剖・培養・計測

妊娠18日目のウィスター系ラットの胎児から大脳新皮質を摘出し、酵素処理及びピペッティングで単離した後、高密度CMOS多点電極アレイ(HiDens)上に播種した. HiDensは2.0x1.75mmの領域に11,011点の電極を有しており、単一神経細胞レベルで126点での同時計測が可能である. 電位が極小値を取る位置に計測電極を配置することで、神経細胞の細胞外電位を記録した. 播種後9~30日目のカルチャー(N=9)の自発活動を20kHzで30分間記録し、1msビン幅の0,1データに直して解析した.(図1)

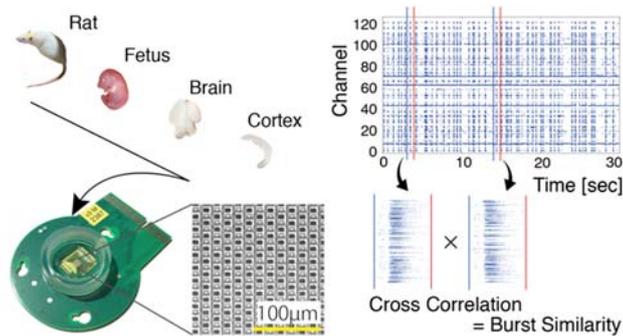


Fig.1:High density CMOS MEA & recorded activity

2.2 同期バースト検出・類似度算出

50msの時間窓内で発火するチャンネルの種類数が30分間の自発活動から計算した平均+1SDを上回った区間をバーストとした. バースト区間のデータを10msビン幅の0,1データに直し、バーストの発火時空間パターンの類似度を相互相関で定義した.(図1)

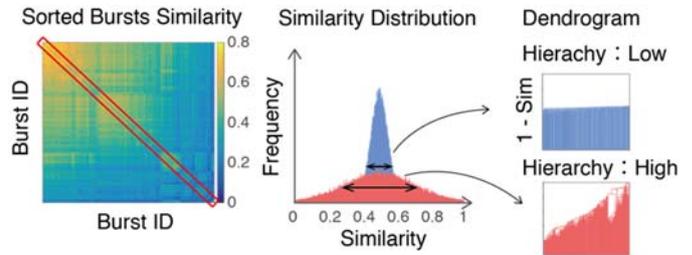
2.3 移送エントロピーによる結合推定

30分間の1msビン自発活動スパイクデータから、伝達時間遅れを考慮した移送エントロピー[2]を用い

て、神経細胞間の結合方向・結合強度を推定した.

2.4 同期パターンの評価指標

生成される同期発火パターンの再現性指標・階層性指標をそれぞれ上位類似度の平均・類似度の分散で定義した. 図2に概要を示す.



Repeatability : Similarities of top 5% related Bursts (Diagonal values)

Hierarchy : Variance of similarity distribution

Fig.2:Burst Similarity Metrics

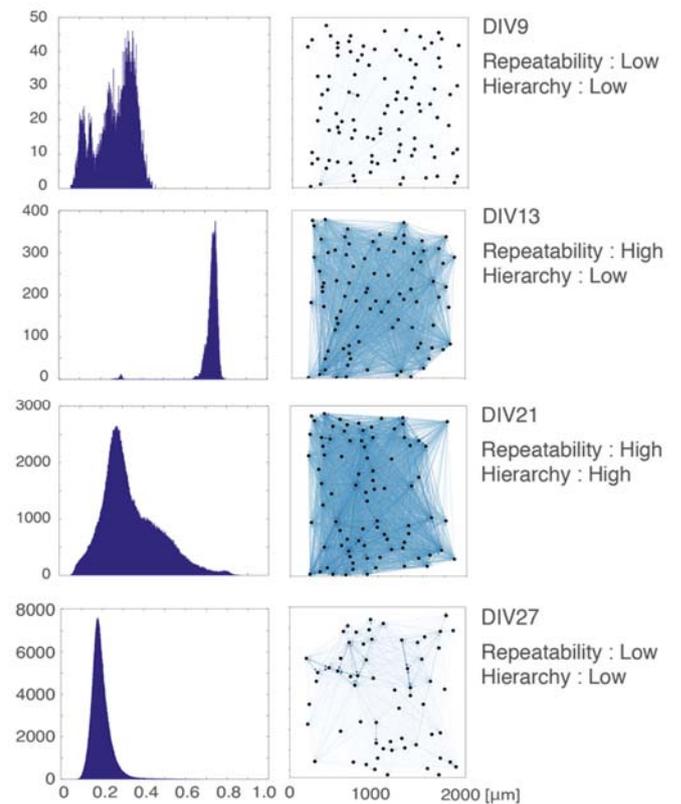


Fig.3:DIV change of Burst Similarity and Network

2.5 ネットワーク特徴量

移送エントロピーで推定した機能結合に基づき、ネットワーク構造の指標として、ノード強度AUC, エッジ強度多様性, (正規化)最短パス長, (正規化)クラスタリング係数を定量化した. ノード強度とは各ノードが出す外向き結合強度の和であり、ノード強度AUC ∈ [0.5, 1]は1に近いほど一部のノード強度がネットワーク全体のノード強度を占めることを示す. エッジ強度多様性 ∈ [0, 1]は各ノード内で、外向エッジの強度

が均等であるほど1に近づく。

3. 実験結果

3.1 再現性・階層性指標とネットワーク特徴

9皿で、再現性・階層性指標に対して、有意な相関を示したネットワーク特徴量を表1に示す。

Table 1: 再現性・階層性指標とネットワーク特徴量の相関係数

ネットワーク特徴量	再現性相関	階層性相関
エッジ数	0.438	0.339
平均結合強度	0.700	0.806
ノード強度 AUC	-0.436	-0.566
エッジ強度多様性	0.696	0.561
正規化最短パス長	-0.246	-0.303
クラスタリング係数	0.243	非有意

3.2 発達によるネットワーク構造変化とそれに伴う再現性・階層性指標の変化

9皿中、2DIV 毎に定期的に計測した4皿での再現性・階層性指標、相関のあったネットワーク特徴量の培養日数(DIV)変化を図4・5に示す。類似度分布、ネットワーク構造の DIV 変化代表例を図3に示す。

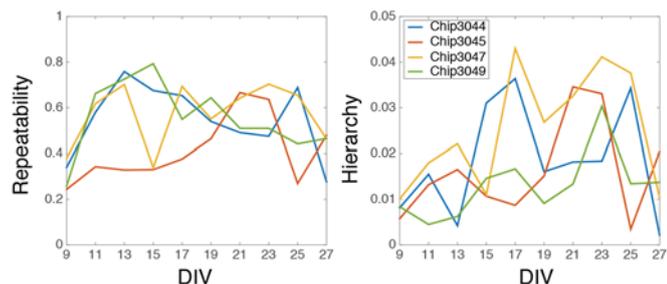


Fig.4: DIV change of Repeatability and Hierarchy

4. 考察

4.1 再現性とネットワーク構造の関係

再現性指標は、エッジ数・エッジ強度多様性・クラスタリング係数に対して階層性指標よりも強い相関を示した。DIV 初期のエッジ数、クラスタリング係数が増加する時期に再現性指標も増加していることから、均等かつ（エッジ強度多様性）密な結合構造（エッジ数）を取り、多対一のロバストな信号伝達を実現しつつ、ローカルな三角形モチーフ（クラスタリング係数）が多いリカレントな構造を構築することで類似したパターンを生み出していると考えられる[3]。リカレントな結合が存在する領域は信号を増幅するためバーストを誘発しやすく、バーストの初期条件がこの領域に集中する可能性が高い。類似した初期条件とロバストな信号伝達によって同期バーストは類似したパターンを示すため再現性指標が上昇すると考えられる。

4.2 階層性とネットワーク構造の関係

階層性指標は、平均結合強度・ノード強度 AUC・正規化最短パス長に対して、再現性指標よりも強い相関を示した。階層性指標は再現性指標が上昇した後に上がっている。つまり、類似していないバーストを生成することの出来るネットワーク構造に変化することで、階層性指標は上がっている。多様なバーストを生成するためには多様なバースト生成初期条件が存在するこ

とが必要と考える。そのためにはノードの強度をネットワーク全体に分散させつつ（ノード強度 AUC）、各ノードが平均的に強い結合強度（平均結合強度）で繋がっていることで、ネットワークの様々な箇所からバーストを誘発可能な構造を作ることが重要である。さらに、ランダムネットワークのように離れたノードとも効率的にやり取りできる結合（正規化最短パス長）を作り、バーストのネットワーク内での伝播を効率化すれば、多様なバーストを生成できるようになる

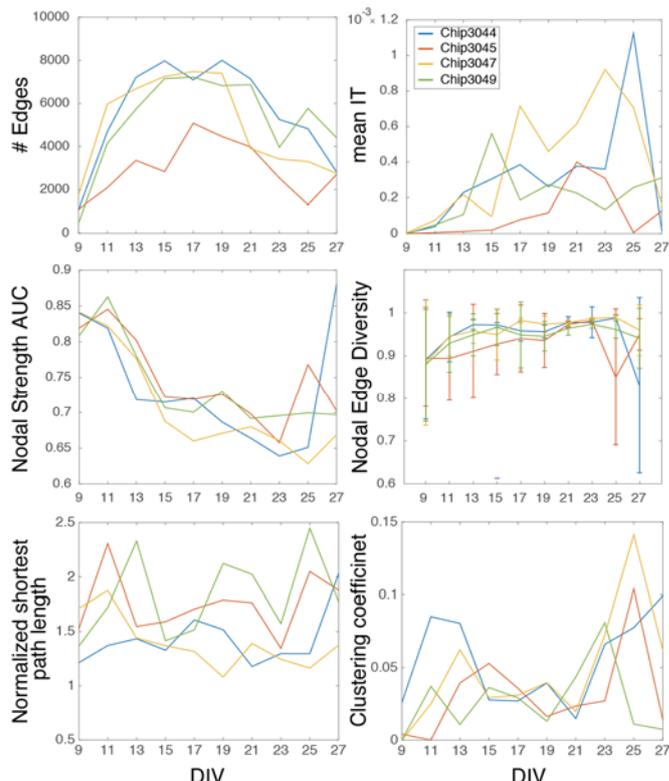


Fig.5: DIV change of Network parameters

5. 結論

本研究では下記の2点を示した。

- 同期パターンの再現性はバーストを誘発しやすいリカレントな結合構造で実現される。階層性は多様な初期条件からバーストの発生を可能にする強い、分散した結合強度を有する結合構造で実現される。
- DIV 初期にエッジ数を大きく増やすことで発火パターンはまず再現性を獲得する。その後、発達に伴い結合強度を高めつつ、それらをネットワーク全体に分散させて行くことによって、発火パターンは再現性に加えて階層性を獲得する。

参考文献

[1] Artur Luczak. *et al*, “Packet-based communication in the cortex”, Nature reviews. Neuroscience, Vol.17, (2015), pp.745-755.

[2] Shinya Ito., *et al* “Extending Transfer Entropy Improves Identification of Effective Connectivity in a Spiking Cortical Network Model”, PLoS ONE., Vol.6, (2011)

[3] Davide Lonardoni, *et al* “Recurrently connected and localized neuronal communities initiate coordinated spontaneous activity in neuronal networks”, PLoS Computational Biology.(2017)