

# 身体性を持たせた培養神経回路網における 「刺激を避ける原理」による自律的な適応行動の生成

Adaptive Behavior can be Emerged Autonomously by Stimulation Avoidance Principle on Embodied Cultured Neuronal Cells

升森敦士<sup>\*1</sup>  
Atsushi Masumori

丸山典宏<sup>\*1</sup>  
Norihiro Maruyama

三田毅<sup>\*1</sup>  
Takeshi Mita

Urs Frey<sup>\*2</sup>  
Urs Frey

Douglas Bakkum<sup>\*3</sup>  
Douglas Bakkum

高橋宏知<sup>\*1</sup>  
Hirokazu Takahashi

池上高志<sup>\*1</sup>  
Takashi Ikegami

<sup>\*1</sup>東京大学  
The University of Tokyo

<sup>\*2</sup>理化学研究所生命システム研究センター  
RIKEN QBiC

<sup>\*3</sup>ETH Zürich  
ETH Zürich

Previous research has suggested that a dissociated neuronal culture has two properties; (1) *Modifiability* of connection between neurons by external stimuli and (2) *Stability* of the connection without external stimuli. If cultured neuronal cells which has these properties is embodied by connecting with an external system, the embodied cultured neuronal cells behave as if it avoid an external stimulation. We call this mechanism a “learning by stimulation avoidance” principle. We try to demonstrate that an adaptive behavior like wall-avoidance can be emerged autonomously by this principle on embodied cultured neuronal cells. In this study first we developed a closed loop system in which a mobile robot is controlled by cultured neuronal cells. Second we conducted robotic experiment using the system. The results show that wall-avoidance behavior of cultured neuronal cells with robot can be enhanced autonomously without any explicit rewards.

## 1. はじめに

近年、分散培養した培養神経回路網と外部システムを相互に接続した Closed loop システムを用いた研究が広く行われてきている ([Kudoh et al., 2008], [Bakkum et al., 2008], [Warwick, 2010])。このような研究は、培養神経回路網が身体を持つといった点で、生物学的な神経回路網の適応的な学習や記憶などに関する研究に効果的であると考えられる。

また、培養神経細胞は、外部刺激の入力によって可塑性が向上する *Modifiability* と外部からの刺激がない状態で神経細胞間の機能的結合関係が維持される *Stability* の2つの性質を持っていることが示されている [Shahaf and Marom, 2001]。このような2つの性質を持った培養神経細胞が身体を持つとき、以下のような手順に従ってあたかも刺激を避けるような行動が生じると考えられる。

- 1 外部刺激の入力によって機能的な結合関係が変化していき、身体を通して表現される行動も変化する。( *Modifiability* )
- 2 表現された行動が刺激が止まることを促すものだった場合、そこで外部からの刺激の入力が止まり、その直前の結合関係が安定化する。( *Stability* )

これらのプロセスを繰り返すことで、刺激を避けるような行動が自律的に学習されると考えられる。実際、[Shahaf and Marom, 2001] らは、培養神経細胞と外部システムを接続したミニマルな Closed loop 環境において学習が達成されることを示している。ここではこのようなプロセスを「刺激を避ける原理」による学習と呼ぶ。本研究では、培養神経細胞にロボットを相互に接続することで身体性を持たせた際に、この「刺激を避ける原理」によって自律的に適応的な行動が生じうるかといった点に注目する。

連絡先: 升森敦士, mausmori@sacral.c.u-tokyo.ac.jp

## 2. 対象と手法

### 2.1 培養神経細胞

本研究で用いる培養神経細胞は、胚齢 18 日目のウイスターラットの胎児から取り出した大脳皮質の一部を分散培養したものをを用いる。また、培養神経細胞の活動を計測するための装置として高密度 CMOS アレイを用いる。この高密度 CMOS アレイは従来の多点電極アレイと比較して空間解像度が非常に高く、11,011 個の電極を持ち、その電極の中から最大で同時に 126 チャンネルの計測が可能となっている [Frey et al., 2010]。そのため、細胞数が 126 以下である場合、各細胞の活動を個別に計測することが可能となる。本研究では、培養神経細胞は全て細胞数が 126 以下になるよう調整して培養したものをを用いる。

### 2.2 Closed loop システム

本研究では、まず、培養神経細胞とロボットとを相互に接続した Closed loop システムの構築を行った。この Closed loop システムは主に、先に述べた培養神経細胞の活動を計測する高密度 CMOS アレイ、ロボット、それらを繋ぐ相互接続インターフェースから成る。ロボットには GCtronic 社製の Elisa-3 を用いる。相互接続インターフェースは、ロボットのセンサー情報を取得し、その値をもとに培養神経細胞へ与える電気刺激の頻度を決定し、電気刺激の命令を高密度 CMOS アレイ側へ送信する。また同様に、高密度 CMOS アレイ側から各神経細胞の活動データを取得し、その活動データにもとづいてロボットのモーター出力を算出し、その値をロボット側送信するといった役割を担っている。相互接続インターフェースを介して繋がれる、神経細胞とセンサー・モーター間の対応関係について以下で述べる。まず、電気刺激を入力する入力用チャンネルとして2つのチャンネルを選択する。この2つのチャンネルをそれぞれロボットの前左1つずつの距離センサーに対応づける。この距離センサーの値が高くなるほど、入力用細胞への電気刺激の頻度が上がる。具体的には、以下の式に従って、センサー値  $S_{i,r}$  に基づいて毎フレームごとに刺激を与えるかど

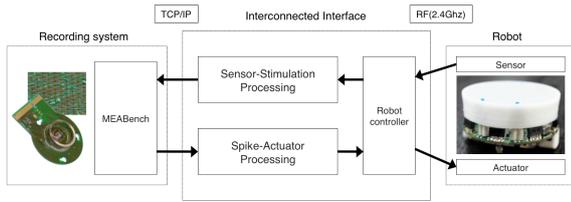


図 1: Closed loop システム概要

うかの確率を算出し、その確率にもとづいて刺激を入れるかどうかが決まる。ここで  $S_{max}$  はセンサーの最大値を表す。

$$P_{l,r} = \begin{cases} 0 & (S_{l,r} < T) \\ S_{l,r}/S_{max} & (S_{l,r} \geq T) \end{cases}$$

また、出力用細胞を 20 個選択し、それぞれ 10 個ずつロボットの左右のモーターと対応づける。この際、左右のモーターの出力値  $V_{l,r}$  は以下の式に従って、毎フレームごとに、出力細胞の発火数  $v$  にもとづいて計算される。

$$V_{l,r} = \sum_{i \in N_{l,r}} \omega_i v_i + C$$

$\omega$  は重みを、 $C$  はデフォルトのモーター出力値を表す。ここでは、 $\omega$  は全て負の値、 $C$  は正の値としているため、ロボットはデフォルトでは直進運動をし、出力細胞の発火頻度が上昇するにつれて減速していき、さらに発火頻度が上昇することで後退運動が可能となる。

### 3. 結果

先述した Closed loop システムを用いて 2 回のロボット実験を行った (以下、Chip#1, Chip#2 とする)。その際、ロボットを走行させる環境は障害物の無い 600mm 四方の正方形のフラットなものを用いた。なお培養神経細胞は培養 28 日 ~ 38 日のものを使用した。

#### 3.1 壁避け行動の評価

壁避け行動の評価を行うために、ここではロボットのセンサー値にもとづいて推定する壁近接時間を用いる。ここで、壁近接時間とはロボットのセンサー値が閾値を超えてから、再び閾値を下回るまでの時間として定義する (図 2)。この壁近接時間はロボットが壁に近づいてから離れるまでの時間を表している。つまり、この壁近接時間が減少すれば壁避け行動が向上したと捉えることができる指標となっている。

図 3 に、実験中のロボットのセンサー値から推定した壁近接時間を示す。図 3 左が Chip#1、右が Chip#2 の結果を示しており、それぞれ左が左のセンサー値にもとづいて推定した壁近接時間、右が右のセンサー値にもとづいて推定した結果を示している。青い点線は緩和時間を表している。ここでは、入力細胞の刺激直後 100 ミリ秒内の発火数が安定するまでの時間を緩和時間とした。この緩和時間を考慮すると、例えば、Chip#1 の場合は右のセンサー情報にもとづいた壁近接時間は減少する傾向があり、Chip#2 の場合は左のセンサー情報にもとづいた壁近接時間が減少する傾向にあるといったように、各サンプルとも少なくとも片方のセンサー情報にもとづいた壁近接時間は減少する傾向にあった。これより、部分的にはあるが、壁避け行動が向上したと捉えられる結果であった。

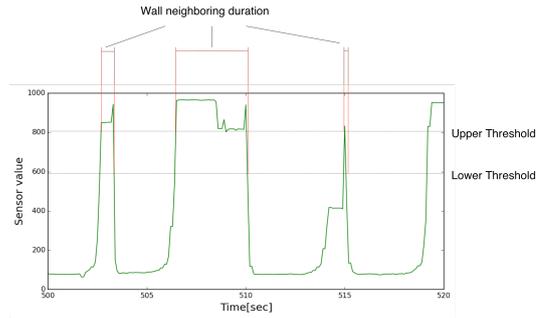
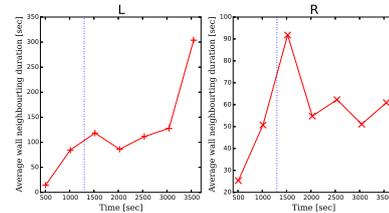
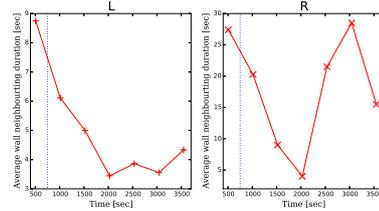


図 2: 壁近接時間のサンプル: 緑線がロボットのセンサー値の時系列。壁近接時間はロボットのセンサー値が上の閾値を超えてから、下の閾値を下回るまでの時間として定義する。



(a) Chip#1



(b) Chip#2

図 3: 壁近接時間の推移

#### 3.2 機能的結合の変化

計測した神経活動のデータから神経細胞間の機能的結合の実験前後での変化の分析を行った。ここで、神経細胞間の機能的な結合を推定する手法として、相互相関関数をもとにした条件付き発火確率 (CFP) を用いた [le Feber et al., 2007]。条件付き発火確率 CFP は以下のように定義される。

$$CFP_{i,j}(\tau) = \frac{\sum_t X_i(t)X_j(t+\tau)}{\sum_t X_i(t)} \quad (0 < \tau \leq 500msec)$$

ここで、 $X_{i,j}$  はある時刻の神経細胞の発火の有無を 0,1 で表したバイナリ列を表している。よって  $CFP_{i,j}(\tau)$  は、ニューロン  $i$  の発火から  $\tau$  ミリ秒後のニューロン  $j$  の発火頻度を表している。図 4 に条件付き発火確率の時系列のサンプルを示す。また、[le Feber et al., 2007] らの手法にもとづき、条件付き発火確率の時系列を以下の式でフィッティングした (図 4)。

$$CFP_{i,j}^{fit}(\tau) = \frac{M_{i,j}}{1 + (\frac{\tau - T_{i,j}}{w_{i,j}})}$$

ここで、 $M_{i,j}$  は offset から極大値までの大きさとし、 $T_{i,j}$  は  $CFP_{i,j}^{fit}$  の曲線が極大値になる時刻を表している。パラメータ

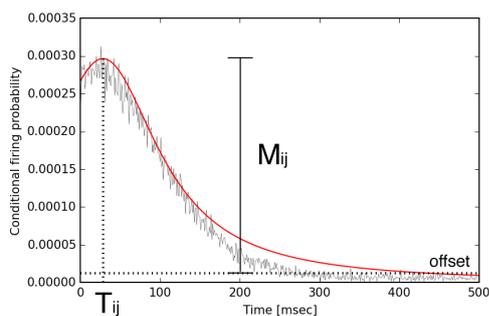


図 4: 条件付き発火確率の例: 黒線が CFP の時系列。赤線がフィッティング曲線。  $M_{i,j}$  は offset から極大値までの大きさ、  $T_{i,j}$  は CFP<sup>fit</sup> の曲線が極大値になる時刻、パラメータ  $\text{offset}_{i,j}$  はバックグラウンドノイズを表している。

$\text{offset}_{i,j}$  はバックグラウンドノイズを表している。曲線の形は  $\omega_{i,j}$  によって決定される。本研究では、  $M_{i,j}$  が  $\text{offset}_{i,j}$  の 2 倍以上かつ、  $T_{i,j}$  が  $0 < \tau \leq 250\text{ms}$  の場合に、ニューロン  $i, j$  間に機能的結合があるとみなす。また、  $M_{i,j}$  をニューロン  $i, j$  間の推定された機能的結合の強度とする。

上記の手法をもとに機能的結合の強度を推定した。その推定された機能的結合強度の平均を実験前後で比較したもの (Chip#1) を図 5 に示す。ここで Closed loop はロボット実験の結果を表し、Open loop はその対象実験として、入力細胞へ与える電気刺激のパターンは Closed loop の場合と同様であるが、ロボットとの接続をなく、その刺激に対するフィードバックのない系で行った実験の結果を表している。図 5 から、Closed loop の場合では実験前後で推定された機能的結合強度の平均が有意に上昇するが、Open loop の場合では実験前後での有意な差は見られないことが分かる ( $p < 0.05$ , wilcoxon の順位和検定)。Chip#2 の結果も同様であった。

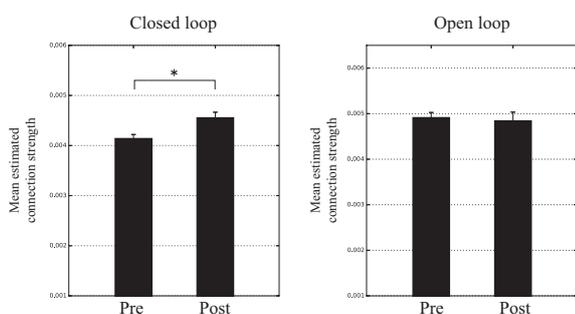


図 5: 推定された機能的結合強度の比較 (Chip#1): 左が closed loop の結果、右が open loop の結果。それぞれ図内の左が実験前、右が実験後の推定された結合強度の平均を表している。closed loop では実験前と比較して、実験後では推定された結合強度が有意に上昇しているが ( $p < 0.05$ , wilcoxon の順位和検定)、open loop では実験前後で有意な差は見られなかった。

本研究での実験設定の場合、壁避け行動を向上させるための単純な方法として、外部刺激の入力後に出力細胞が一斉に発火頻度を上げるといったことが考えられ、この方法をとる場合には神経細胞間の機能的な結合強度が上昇すると考えられる。よって、機能的結合の分析の結果、Closed loop の場合に実験前後で機能的結合強度の平均が上昇していたことから、壁避

け行動が向上する方向に可塑性が働いたと捉えられる結果であった。

#### 4. 結論

Closed loop システムを用いた実験の結果、行動の評価、機能的結合の変化の分析とともに、部分的にはあるが培養神経細胞がロボットを通して表現する壁避け行動が向上していると捉えられる結果であった。この結果からも、神経細胞は身体を持つことで、「刺激を避ける原理」にしたがって、外部からの明示的な報酬がない場合でも自律的に適応的な行動を学習できる可能性が示された。

#### 参考文献

- [Bakkum et al., 2008] Bakkum, D. J., Chao, Z. C., and Potter, S. M. (2008). Spatio-temporal electrical stimuli shape behavior of an embodied cortical network in a goal-directed learning task. *Journal of neural engineering*, 5(3):310–23.
- [Frey et al., 2010] Frey, U., Sedivy, J., Heer, F., Pedron, R., Ballini, M., Mueller, J., Bakkum, D., Hafizovic, S., Faraci, F. D., Greve, F., Kirstein, K.-U., and Hierlemann, A. (2010). Switch-Matrix-Based High-Density Microelectrode Array in CMOS Technology. *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, 45(2):467–482.
- [Kudoh et al., 2008] Kudoh, S. N., Kiyohara, A., Hosokawa, C., Taguchi, T., and Hayashi, I. (2008). Vitroid - a robot with link between living neuronal network in vitro and robot body. *2008 IEEE International Conference on Mechatronics and Automation*, pages 375–378.
- [le Feber et al., 2007] le Feber, J., Rutten, W. L. C., Stegenga, J., Wolters, P. S., Ramakers, G. J. a., and van Pelt, J. (2007). Conditional firing probabilities in cultured neuronal networks: a stable underlying structure in widely varying spontaneous activity patterns. *Journal of neural engineering*, 4(2):54–67.
- [Shahaf and Marom, 2001] Shahaf, G. and Marom, S. (2001). Learning in networks of cortical neurons. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, 21(22):8782–8.
- [Warwick, 2010] Warwick, K. (2010). Implications and consequences of robots with biological brains. *Ethics and Information Technology*, 12(3):223–234.