

生体神経回路網における誘発応答パターンの階層的クラスタリング

Hierarchical classification of evoked responses in cultured neuronal network induced by series inputs.

久内 晴加 *¹
Haruka Hisauchi

箕嶋 渉 *¹
Wataru Minoshima

工藤 卓 *¹
Suguru N. Kudoh

*¹関西学院大学 理工学部

School of Science and Technology, Kwansai Gakuin University

To reveal characteristics of response to a stimulus in a living neuronal circuit is important for clarifying brain information processing. In this study, we cultivated rat hippocampal cells on a multielectrodes array (MEA) dish and classified spatiotemporal patterns of electrical network responses to stimulus, applying hierarchical clustering. We investigated each response pattern induced by the stimulus to randomly selected one of three stimulation electrodes. We found that the result of clustering was different from between random stimulation and sequential one. This result indicated that living neuronal network separates and classifies the correct interval input and distinguished clusters and autonomously formed.

1. はじめに

脳の情報処理の仕組みを理解することは、高度な AI の実現にとっても重要であるが、未だ不明な点が多い。脳の情報処理は、脳を構成する神経細胞の微小でかつ確率的な電気活動で生じるダイナミクスによって実現されている [Kandel 00]。これらのダイナミクスの研究には、脳の基本的な性質を保持した分散培養神経回路網が有効である。神経活動は自発性活動と誘発応答活動があり、脳の外部からの入力に対する情報処理については誘発応答活動が担っていると考えられている。誘発応答活動の性質として、1~2 秒間隔の連続刺激に対し、その刺激に特有の誘発応答が発現すること [伊東 13] やコンディショニング刺激後に、連続刺激に対する応答が変化することが報告されている [Shahaf 01]。これらのことから、神経回路網は連続した入力刺激を分類し、特異的に反応している可能性があると言える。本研究では、培養系における刺激電極位置にそれぞれ記号的意味を対応させ、刺激に対する誘発応答に階層型クラスタリングを適用することで神経細胞が記号パターンを識別しうるかを明らかにすることを目的とする。培養した半人口の神経回路網が繰り返し入力される特定の時空間パターンを識別・学習することが示せるならば、生物の自律学習のメカニズムの一端を小規模神経回路網において再現できたとと言えるだろう。

2. 実験手法

2.1 ラット海馬分散培養

胚齢 18 日目のウイスターラット (Jcl:Wistar) の海馬神経細胞を用いて分散培養を行った。微小電極が底面に 64 個配置された特殊培養皿 (-MED サイエントフィック) 上に、内径 7 mm のクロニングリングを電極を覆うように配置し、その内部にトリプシン処理により十分解離分散した細胞を播種した。クロニングリングは培養の翌日に除去し、細胞を播種した培養皿は 37 °C・5% CO₂ のインキュベータ内に静置し、神経回路網を再構築した。

2.2 解析手法

胚齢 18 日、培養日数 15~83 日 (E18DIV15~83) の神経回路網について、3 電極について 5 秒間隔での定順序刺激と 5 秒間隔および 10 秒間隔での無作為順序刺激をそれぞれ個別の神経回路網について行い、応答電位をサンプリング周波数 20 kHz、量子ビット数 12 bit でデジタル変換した、電位信号データを取得し、この電気信号から指定した閾値を超えた振幅・幅を持つスパイクを活動電位として検出し、64 個の微小平面電極から得られた刺激後 100 ms の活動電位パターンを 64 次元の特徴ベクトルとして解析した。それぞれの刺激ごとに得られた特徴ベクトルを階層型クラスタリング手法の一種であるワード法によりクラスタ分類した。ワード法は、クラスタ内の分散が最も小さくなるクラスタ同士を一つのクラスタとして分類していく手法で、分類精度がほかのクラスタリング手法に対して高いため用いた。融合するクラスタは式 (1) を元に決定した。

$$d_{ij} = \text{Var}(C_i \cup C_j) - (\text{Var}(C_i) + \text{Var}(C_j)) \quad (1)$$

ここで $\text{Var}(C)$ はクラスタ C 内のデータの分散を示す。得られたクラスタ内に含まれる要素を解析し、クラスタに含まれる 3 つの刺激電極による誘発応答パターン (要素) の含有率を解析し、クラスタの分類精度として評価した。また、刺激実験前に 10 分間の自発性活動を計測し、自発性活動とクラスタ分類精度の関係性について解析した。クラスタ分類精度は式 (2) を用いて算出した。

$$\frac{1}{m} \sum_i^m \frac{a_i + b_i + c_i}{n} \times 100 \quad (2)$$

ここで、 a_i は刺激電極 A の刺激による応答が 100% を含めるクラスタを構成する要素数の合計値とし、 b_i, c_i も同様である。 n は全体の要素数、 m は実験データ数を表す。

連絡先: 久内晴加, 関西学院大学理工学部人間システム工学科
神経知能工学研究室, 兵庫県三田市学園 2 丁目-1, 079-565-7244, ejx21165@kwansai.ac.jp

3. 結果・考察

定順序刺激，無作為順序刺激のクラスタリング結果について，いずれの実験データについても，クラスタが1種類の刺激電極による誘発応答パターンの要素のみによって構成されているものと複数の種類の要素で構成されているものが観察され，神経回路網の個体差がクラスタの分類精度に大きく影響していると考えられた（図1）．また，無作為順序刺激では10秒間隔での無作為順序刺激と5秒間隔での定順序刺激には分類精度に有意差がないのに対し，5秒間隔の無作為順序刺激と定順序刺激のクラスタリング精度では有意差が存在した（図2）．5秒間隔の無作為順序刺激の場合は刺激の履歴性が残っており，クラスタ分類に影響が及んだことが示唆された．10秒間隔の自発性活動の総発火数に対する刺激後による誘発応答数の比とクラスタ分類精度について，誘発応答数の比率が高いものほどクラスタ分類精度が高い傾向があった（図3）．

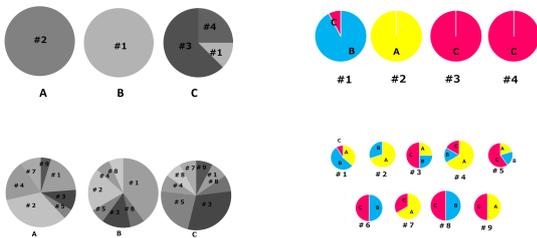


図1: 左: 各刺激を構成するクラスタの割合 右: 誘発応答パターン分類によって得られたクラスタに含まれる刺激電極の割合．誘発応答が1種類の刺激電極によるパターンのみ含むクラスタとして分類できた例（上）と分類に失敗した例（下）．

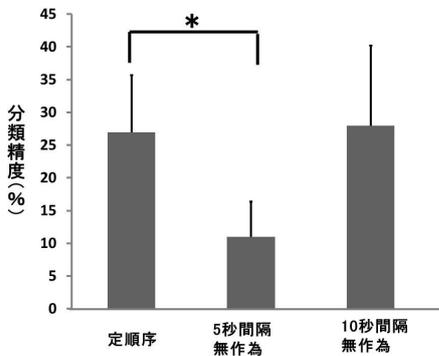


図2: クラスタの分類精度．定順序刺激，5秒間隔での無作為順序刺激，10秒間隔での無作為順序刺激の結果を示す．エラーバーは標準誤差を示す（N=11, 7, 5）．

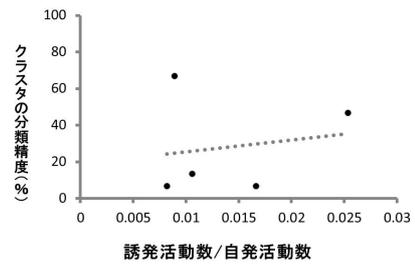
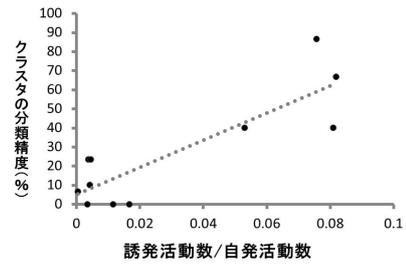


図3: 自発活動に対する誘発応答発火数の割合とクラスタの分類精度の関係性．上: 5秒間隔定順序刺激 下: 10秒間隔無作為順序刺激．

4. 結論

神経回路網の電気刺激後の誘発応答パターンを階層型クラスタリングを用いて分類した結果，実際に，1種類の刺激によって誘導されたパターンのみからなるクラスタが得られたことから，神経回路網は刺激に固有の応答を示すことが示唆された．また，5秒間隔において，定順序刺激と無作為順序刺激間に有意差が存在したことから，刺激間隔が5秒間隔以内ならば，神経回路網は前の入力の影響を受けて活動パターンが変化することが考えられ，すなわち，5秒以内の連続時系列パターンの識別が可能であることが示唆された．また，神経回路網の電気刺激に対するクラスタ分類の精度には，個体差が存在し，刺激に対する誘発応答の強度が分類に重要であることが示された．

参考文献

- [Kandel 00] Kandel, R. E., Schwartz, H. J., and Jessell, M. T.: *Principals of Neural Science Fifth Edition*, McGraw-Hill Companies (2000)
- [Shahaf 01] Shahaf, G. and Marom, S.: Learning in Networks of Cortical Neurons, *Journal of Neuroscience*, Vol. 21, No. 22, pp. 8782-8788 (2001)
- [伊東 13] 伊東嗣功・工藤卓: 培養神経回路網における誘発応答パターンの履歴現象, 電気学会論文誌. C, 電子・情報・システム部門誌: The transactions of the Institute of Electrical Engineers of Japan. C, A publication of Electronics, Information and Systems Society, Vol. 133, No. 10, pp. 1905-1911 (2013)