

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2016

課題番号：16K14191

研究課題名（和文）リザーバー・コンピューティングによる神経細胞の分散培養系の身体化

研究課題名（英文）Embodiment of neuronal dissociate culture by reservoir computing

研究代表者

高橋 宏知（Takahashi, Hirokazu）

東京大学・先端科学技術研究センター・講師

研究者番号：90361518

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 2,800,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、多様性を生み出す能力を明らかにするために、シャーレ上に培養した神経回路において、どのようにして静的な神経回路構造から動的な活動パターンが生じるかを調べた。特に、培養神経回路によるリザーバー計算を考えたとき、培養神経回路のリザーバーとしての特徴を明らかにした。神経回路が自発活動で時空間パターンの再現性と多様性を両立するメカニズムとして、神経回路に部分的な神経集団が存在し、部分集団単位で逐次的に活動伝達することで安定性を確保し、かつ自律的な内部状態依存で部分集団間の関係が変化することで多様性を両立することを示した。

研究成果の概要（英文）：This work investigated in primary dissociated cultures how neural circuits produce diversity of activity repertoire and how the static neural circuits produce stable, dynamic spatiotemporal patterns. In particular, considering a framework of reservoir computation, we characterized the neuronal circuits as a reservoir. We demonstrated that sequential propagation of neuronal sub-populations during synchronized activity underlies stability of neural representation. We also found a spontaneous, state-dependent property of neuronal activities, which is likely to play an important role to produce diversity of activity repertoire.

研究分野：神経工学

キーワード：分散培養 脳

### 1. 研究開始当初の背景

著者らは、「多様性を生み出す」能力と「多様性から秩序を生み出す」能力が、脳の知能の源泉と考えている。この考えは、1970年代から提唱されている神経ダーウィニズム仮説に遡る。最近の計測技術の進歩により、神経細胞には豊かな個性があること、さらに、神経活動パターンは複雑であるだけでなく規則性もあることが、神経ダーウィニズム仮説の状況証拠として示され注目を集めている。しかし、その次のステップとして、この仮説を時空間的な神経活動パターン(時空間パターン)に拡張すると、どのように静的なネットワークから動的な規則性が生まれるのか、さらには、どのように多様性から規則性が生まれるかは実験的に検証されていない。

知能を発現させるためには、様々なパターンを必要に応じて組み合わせる必要がある。そのためには、神経回路にフィードバック刺激を与え、適切な基底パターンを誘発できればよい。これは、リザーブ・コンピューティングと同じ枠組みに帰着できると考えた。脳科学分野でも、実際の脳の計算アルゴリズムとしてリザーブは注目され始めている。高性能なリザーブ・コンピューティングの実現のためには、実際の脳活動から示唆を得ることが重要であると考えた。

### 2. 研究の目的

本研究では、多様性を生み出す能力を明らかにするために、シャーレ上に培養した神経回路において、どのようにして静的な神経回路構造から動的な活動パターンが生じるかを調べた。特に、培養神経回路によるリザーブ計算を考えたとき、培養神経回路のリザーブとしての特徴を明らかにした。神経回路が自発活動で時空間パターンの再現性と多様性を両立するメカニズムとして、神経回路に部分的な神経集団が存在し、部分集団単位で逐次的に活動伝達することで安定性を確保し、かつ自律的な内部状態依存で部分集団間の関係が変化することで多様性を両立するという仮説を立て、その検証を行った。

### 3. 研究の方法

実験試料: ラット大脳皮質に由来する神経細胞を高密度アレイ上に分散培養した。妊娠18日目のウイスターラットから胎児ラットを取り出し、大脳皮質を摘出し、皮質神経細胞を含む細胞懸濁液を生成した。電極アレイの計測領域に細胞接着性コーティングを施した後、神経細胞を播種、培養した。培養はインキュベータ内で行い、1週間に2度の頻度で培地を半量ずつ交換した。なお、インキュベータ内は気温 37℃、CO<sub>2</sub>濃度 5% に維持した。

計測手法: 培養神経回路の活動パターンの詳細を捉えるために、従来の微小電極アレイに加え、これまでに著者らが確立してきた高密度 CMOS 電極アレイによる計測技術を用い

た。従来の電極アレイが、2mm角に100個程度の計測点を有するのに対し、CMOS電極アレイは2mm角に1万個の計測点を備えており、従来とは比較にならない精度で神経活動パターンを捉えられる。例えば、電気刺激により活動電位が発生すると、複雑な形状の軸索に沿って活動電位が伝播した後、シナプス結合を介して複数の細胞に信号が伝わり、複雑な神経活動パターンが生成される様子を可視化できる。

### 4. 研究成果

#### 細胞集団伝達と自律状態遷移

本研究では、4096チャンネルCMOS電極アレイによる高時空間解像度計測と、NMFによる次元削減を組み合わせ、培養3週間前後の皮質分散培養神経回路の同期バーストを調べた。その結果、同期バーストは複数の時空間パターンからなる活動レパートリーを持ち、また複数の時空間パターンに、共通する部分神経集団の活性化順序が存在することが示された。これは、同期活動で部分的な神経集団で情報伝達が生じるというモデルを支持する(図1)。さらに、類似した時空間パターンの同期バーストが連続的に、かつ周期的に出現しやすく、これは部分神経集団間の伝達状態依存的に変化することを示唆している。この同期活動の状態依存性は、先行研究では見落とされていた事実である。このような、状態依存的特性を持つ階層的な部分神経集団構造は、神経回路が同期活動で安定した活動レパートリーを出力するための有力な神経基盤と考えられる。

本研究で得られた結果は、神経活動が自発的にいくつかの時空間パターンを巡回することを示しており、これは培養皿上の孤立して存在する分散培養神経回路にも、準安定状態が存在することを示唆している。ある状態にいても連続的な同期バーストパターンの変動が生じていたことから、それぞれの状態は孤立したものではなく、連続的な中間状態を持つのかもかもしれない。

神経回路の安定した活動状態はしばしばアトラクタとして言及されてきた。旧来、神経回路のアトラクタは特定の情報(記憶)そのものとして考えられていた。しかし、古典的なアトラクタネットワーク、すなわち、一つのアトラクタが一つの記憶を表すという考え方は、生物が実現するのに現実的な方策とは言えない。その理由として、これまでに実験的に得られている知見と比較した時に、要求される記憶容量に対してアトラクタの数は限定的であること、記憶を想起するのにアトラクタに収束するまでの時間が必要となること、さらに神経回路の自発活動との関係が説明できないことが挙げられている。そのため、より生物が実現する上で合理的な考え方として、近年の研究では準安定状態の間を遷移することそれ自体が情報を保持し、また表現しているとも考えられている。

一般的に、再帰的に生じる時空間パターンは、神経回路の準安定状態が表出したものであると考えられている。特定の時空間パターンが出る間は特定の細胞やシナプスの特性（例えば、短期可塑性や時定数の遅い抑制性のシナプス高電位、NMDA 受容体の特性など）が持続しており、神経回路の隠れ状態を構成していると言われている。このような隠れ状態は、本研究で連続して似たような同期バーストが現れたことを説明できるかもしれない。つまり、同期バーストを表象とする隠れ状態が神経回路の内部記憶を保持している可能性がある。このような内部記憶は、外部入力で一時的に保持される記憶よりも強固であろう。このような一時記憶は簡単に同期バースト、すなわち内部記憶で消去されることが知られている。隠れ状態から特定の時空間パターンを生み出される上では、抑制性の介在神経細胞持つ役割も大きいだろう。

本研究で得られた結果は、複数の異なる時空間パターンが共通した神経回路の安定な伝達構造から生み出されることを示している。隠れ状態に依存した伝達をすることで、このような安定した構造からでも複数のパターンを生み出せるのではないかと考えられる。逐次的な活性化構造という考え方は、分散培養神経回路で報告されている同期バーストの開始時に発火する少数の神経細胞、つまりリーダーニューロン、と同期バーストでの神経細胞の階層的構造と矛盾しない。本研究結果は異なる活動状態で同期バーストが類似した時空間パターンを持つという *in vivo* 実験での報告にも一致する。まとめると、このような状態依存性を持つ部分神経集団の逐次活性化構造（Synfire chain の改良版ともいえる）は、同期活動の安定性と多様な時空間パターン生成の両方を説明できる。

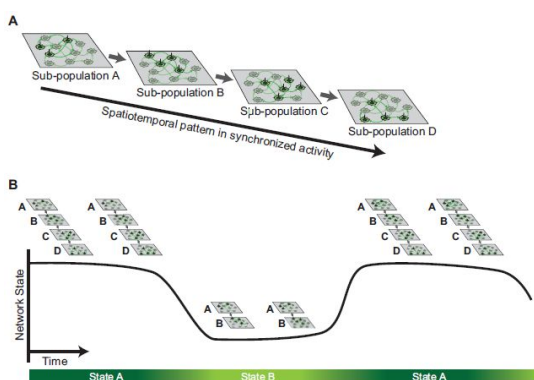


図1 部分的な神経集団による情報伝達のモデル

### 自発活動と誘発応答の類似性

本研究では、高密度 CMOS 電極アレイを用い、皮質分散培養神経回路の自発神経活動、及び電気刺激を与えたときの神経活動を計測し、生じた同期バーストを比較した。電気刺激を与える際には、高密度 CMOS 電極アレイに備えられた 11,011 個の電極中から同期

バーストを誘発できる電極を同定し、電気刺激を与えた。同期バーストは部分神経集団の活動に相当する低次元の神経軌道を持つと仮定し、Gaussian process factor analysis (GPFA) で次元削減して推定した（図 2A）。自発同期バーストの神経軌道はアトラクタ様の軌道を示し、再現性を持って活動空間中の特定の領域を通った。これらの軌道は一樣ではなく、類似する神経軌道群からなるクラスタを構成した。電気刺激を与えた間に神経回路が自発的に示した刺激間自発同期バーストも同様の軌道群を示したのに対し（図 2B）、刺激誘発同期バーストは自発同期バーストの一部分のクラスタと有意に高い類似度を示した（図 2C）。刺激誘発同期バースト群は自発同期バースト群と比較して有意に高い群内平均類似度と有意に小さい群内類似度標準偏差を示し、電気刺激が神経軌道の活動領域を縮小させたことを示唆する。また、刺激間自発同期バーストは刺激誘発同期バーストに対して、自発同期バーストの刺激誘発同期バーストに対する類似度よりも有意に高い平均類似度を示し、電気刺激が自発活動自体を変調する可能性を示唆する。

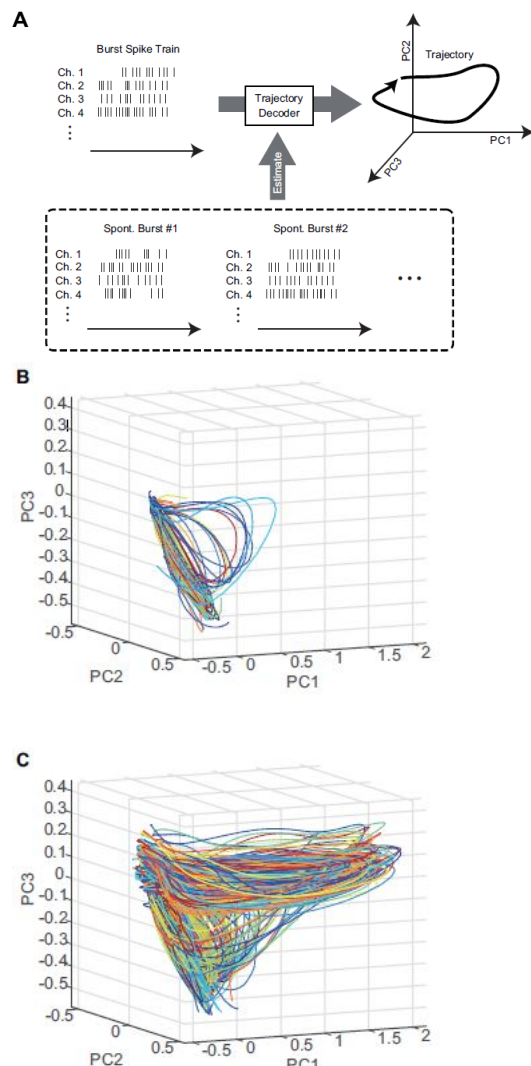


図2 神経軌道の推定。A 解析の概念図。B 誘発応答。C 自発活動。

GPFA は抽出する低次元の軌道に滑らかさを仮定する次元削減手法である。一般に、神経回路の情報処理は ms レベルの精度を持つと考えられている。しかし、神経回路の同期活動は同期開始直後には極めて高い精度の活動パターンを示すのに対して、同期開始から時間が立つほど神経細胞の発火時刻関係のばらつきは大きくなる。そのため、同期現象の時空間パターンはしばしば時間的に平滑化して比較される。また、次元削減で部分神経集団の活動に該当する成分を抽出することは、同期と関わらず定常的に発火する神経細胞や、偶々発火した神経細胞を除いた神経回路の時空間パターンを得ることに相当すると考えられる。本研究結果でも GPFA は同期バーストの時空間パターン構造を明らかにし、時間的な平滑化と空間的なノイズ除去を同時に実施できる手法として、神経軌道の抽出に有用な手法と推察される。

分散培養神経回路に高密度 CMOS 電極アレイから電気刺激を加えると、刺激に誘発された同期バーストの神経軌道は互いに類似し、また自発同期バーストの一部のクラスターと類似した。これは、刺激入力で神経活動の軌道領域が縮小されたことを示唆する。この結果は先行研究で示された発火数ペア領域の縮小と一致し、また刺激入力を加えたときの応答が自発活動よりも小さい試行間ばらつき (trial-to-trial variability), 低い次元を持つこととも一致する。

電気刺激を加えている合間に生じた刺激間自発同期バーストは、刺激のない環境下で自発的に生じた同期バーストよりも相互に高い類似度を示した。これは、刺激入力に神経回路の状態に影響を与えていることを示唆する。刺激のない環境下の自発同期バーストと比べて、刺激入力のある期間の自発同期バーストは刺激誘発同期バーストと高い類似度を示した。これは、刺激入力に状態に及ぼす作用が、その刺激入力の応答として出やすい時空間パターンが出やすい状態へと近づける効果を持つ可能性を示すかもしれない。これは、自発活動が外部入力を予測するという仮説とも合致し、初歩的な学習の形と捉えられるかもしれない。長期間刺激を加えて同期バーストを誘発した時の変化を調べるなどして今後の検証が必要である。

刺激に誘発された同期バーストが、その直前、または直後に自発的に生じた同期バーストと類似するかは回路によって異なった。もしこれらが類似するならば、刺激に誘発される同期バーストが状態依存で生じることを意味すると考えられる。類似しない回路では自発同期バースト間の類似度のばらつきが小さかった。類似度のばらつきが小さく、平均的に高い値を持つ場合は、同期バーストの時空間パターンが一様で多様性に欠けることを示唆する。類似度のばらつきが小さく、平均的に低い値を示す場合は、同期バーストで類似した時空間パターンが再生されにく

く、再現性が不十分であることを示唆する。同期バーストの状態依存な応答は、自発活動に十分な再現性と多様性を両立している神経回路でのみ生じるのかもしれない。

## 総括

次元削減法で部分神経集団の活動を抽出すると、分散培養神経回路は共通した部分神経集団を用いて異なる時空間パターンを再生することが示された。さらに、類似したパターンが連続して再生されることから、連続的な内部状態依存で時空間パターンが出力されることを示唆した。次に、分散培養神経回路が自己組織的に自発活動に創り出す時空間パターンが記憶の座としての役割を持つか明らかにするため、分散培養神経回路に電気刺激を加えて同期発火を誘発し、自発同期活動パターンとの類似性を調べた。神経回路は自発活動で幾つかの再現性ある時空間パターンを出力し、誘発された同期活動の時空間パターンはその一つと類似した。すなわち、分散培養神経回路でも自発活動の時空間パターンが記憶の座としての役割を果たす可能性が示された。分散培養神経回路は予め自己組織的に創り出した内部状態に対して、外部入力を投射して表現するとも言える。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計 1 件)

Yuichiro Yada, Takeshi Mita, Akihiro Sanada, Ryuichi Yano, Ryohei Kanzaki, Douglas J. Bakkum, Andreas Hierlemann and Hirokazu Takahashi: “Development of neural population activity toward self-organized criticality.” *Neuroscience* 343: pp. 55-65, 2017 (doi: 10.1016/j.neuroscience.2016.11.031)

### 〔学会発表〕(計 7 件)

Y. Yada, R. Kanzaki and H. Takahashi: “Dimensionality reduction of massively recorded activity reveals sequential structure and state-dependency in dissociated neurons.” MEA Meeting 2016 | 10th International Meeting on Substrate-Integrated Electrode Arrays: 2016 (Reutlingen, Germany)

H. Takahashi, S. Yasuda, Y. Yada and R. Kanzaki: “Reservoir computing with dissociated neuronal culture.” MEA Meeting 2016 | 10th International Meeting on Substrate-Integrated Electrode Arrays: 2016 (Reutlingen, Germany)

角田颯飛, 矢田祐一郎, 神崎亮平, 高橋宏知: 「繰り返し同期誘発刺激による培養神経回路の記憶の操作」, 電気学会医用・生体工学研究会 (東京, 2017 年 3 月 20 日)

高橋宏知: 「知能を生み出す脳のメカニズム」, 応用物理学会有機分子・バイオエレクトロニクス分科会 2 月研究会 (東京, 2017 年 2 月 21 日) [招待講演]

高橋宏知: 「メカ屋のための脳科学入門」,

SEMICON JAPAN 2016 (東京, 2016 年 12 月 14 日) [招待講演]

高橋宏知: 「神経細胞の分散培養からの知能の創発」, 第 219 回 有機エレクトロニクス材料 (JOEM) 研究会 (東京, 2016 年 10 月 12 日) [招待講演]

Hirokazu Takahashi: “Intelligence emerging from neural system.” NICT-NSF Collaborative Workshop on Computation Neuroscience (大阪, 2017 年 1 月 17 日) [招待講演]

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

研究代表者のホームページ

<http://www.brain.imi.i.u-tokyo.ac.jp/~takahashi/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高橋 宏知 (Takahashi, Hirokazu)

東京大学・先端科学技術研究センター・講師

研究者番号: 90361518