

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 21 日現在

機関番号：34304

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24500580

研究課題名(和文)皮質コラム構造に基づいた視覚再建のための局所持続型電気刺激法の検討

研究課題名(英文) Examination of intracortical stimulation methods for visual prosthesis based on cortical columnar structures.

研究代表者

田中 宏喜 (TANAKA, Hiroki)

京都産業大学・コンピュータ理工学部・准教授

研究者番号：40335386

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：視覚野に電気刺激を行うことで光覚が生じることが報告されており、視覚再建の手段として期待されている。しかしながら、最適な電極配置や電流パラメーターについて不明な点が多く、その基盤にある視覚野の理解も進んでいない等の問題があり、実用化には至っていない。そこで本研究では、人工視覚に最適な電極配置、刺激デバイス、電気刺激パラメーターについて調べるとともに、視覚野神経回路を明らかにする研究を行った。本研究の結果、間欠型の高周波パルスを用いることにより、局所的で持続性ある神経応答を引き起こせることを示した。またこのような人工視覚の基盤にある第一次視覚野回路の同期活動の詳細を明らかにした。

研究成果の概要(英文)：Delivery of electrical pulses to visual cortices produces a sensation of small spot of light, indicating a possibility of this technique to be used as a visual prosthesis that assists for blind people. To realize this, it is important to establish stimulation protocols appropriate for visual prosthesis. Therefore, I examined cortical activities in response to intracortical stimulations of various stimulus frequencies and segmented pulse trains interrupted with pause intervals. My results indicate higher frequencies are desirable for evoking spatially localized and temporally constant population activities. Such activities can be observed, even when duty ratio are lowered up to 60%. For realization of visual prosthesis, it is also important to understand the physiological basis of visual prosthesis. We therefore investigated how neuronal population in the visual cortex cooperates to work and revealed the details of spatial range or laminar dependence of such cooperative activities.

研究分野：視覚神経科学

キーワード：人工視覚 視覚野 閃光 電気刺激

1. 研究開始当初の背景

緑内障、糖尿病網膜症、網膜色素変性などにより数千人に一人が視力を喪失している。このような患者の視覚を再建する手段として、神経機能が損なわれていない網膜部位や大脳皮質視覚野に外部から電気刺激を加え感覚を引き起こす人工視覚が国内外で研究されている。神経機能が残存している確率が高く、また電気刺激も比較的容易な皮質刺激型は、Brindley や Dobbie が軟膜上に配置した平面電極から電気刺激を行う先駆的研究を行ったが、電流拡散や痛みの誘発のため実用化までには至らなかった。その後、皮質内部に埋め込んだ電極から電気刺激する方法が開発され、生体に傷害を与えない程度の弱い電流で患者に閃光知覚を生じさせることが報告された。しかしながら、人工視覚の実用化に必須の知見となる最適な電極配置や電気刺激パラメータについては不明な点が多く残されたままである。より効率的な電流刺激デバイスの開発も重要である。

さらに皮質刺激型人工視覚システムの向上のためには視覚野、とくに第一次視覚野の理解が不可欠である。しかしながら、この領域の神経回路は不明な点も多く、その解明が望まれている。

2. 研究の目的

(1) 効率のよい刺激プロトコール

皮質微小電気刺激により、特定の特徴の感覚(例:視野のある場所の閃光)を生じさせるには、局所領域を刺激できるようなパラメータを選ぶことが重要である。

本研究では、電気 artifact の影響がなく、また広範囲かつ高分解能で神経活動を測定できる膜電位感受性色素を用いて、さまざまな電気パルス時間周波数で視覚野刺激を行ったときの神経活動を可視化し、応答領域の比較を行った。

高周波パルストレインを利用する場合、実用的見地からは消費電力を低減することも重要な問題となる。パルストレインを分節化し、刺激期間のデューティ比を下げることで、刺激周波数を保ったまま、消費電力を低減することができる。しかしながらデューティ比の低下は、神経応答の強度や局在性を低下させる可能性がある。そこで本研究では duty ratio を変化させたときの神経活動も調べ、神経応答の強度や局在性を維持しうる duty ratio の範囲も検討した。

(2) コラム構造を利用したミシガンプローブを用いた刺激プロトコールおよび新規刺激デバイスの評価

多点刺激電極を利用し、さまざまな深さの刺激電極プローブを交互に利用することで神経活動をより長く維持できるかを検討する。これに市販の通称「ミシガンプローブ」とよばれる電極を利用する。

ガラス電極と異なり、ミシガンプローブを使った皮質刺激の研究実績はほとんどなく、適切に刺激できるかどうか不明である。そこで本研究の最初の目的としては、ミシガンプローブが神経組織を十分活動させるかどうかの評価実験を行う。その後、プローブの交互刺激の検討を行う。

さらに、研究代表者が2011年から2013年まで所属した大阪大学MEIセンターにおいて開発途上にあった、汎用性が高くかつ小型の新規多点刺激デバイス(40V 耐圧 20 チャンネル高インピーダンス刺激デバイス)の性能評価実験をおこなう。

(3) 人工視覚の基礎となる V1 野神経回路の動作解明

第一次視覚野において、どのように神経回路が構成されているのか、またどのように動作をするのかを理解するための研究を行う。in vivo において神経回路の構成・動作を理解する1つの標準的な方法は、神経活動の相関を調べることである。そこで、様々な位置関係にある細胞ペアの活動相関を詳しく調べる研究を行った。またそれが6層構造にどのように依存するのかを分析した。

3. 研究の方法

(1) 皮質電気刺激にたいする VSD イメージング法

成熟マウスにウレタンを腹腔内投与し麻酔を施した。動物を脳固定装置に固定し、頭部皮膚を切開後頭蓋骨をドリルで切開し、第一次視覚野を含む範囲の脳表を露出させた。露出した脳表に膜電位感受性色素RH-1691を硬膜上から滴下し約90分間染色を行った。その後、人工脳脊髄液(ACSF)で、残留した色素を十分に洗い流した。

微小ガラス管に ACSF を充填し、管内に Ag/AgCl 線を入れ電極として用いた。マニピュレータで電極を操作し、露出した第一次視覚野の脳表に対して垂直に皮質表面から電極先端が 250 μm の深さになるように刺入した。この深さはマウスの場合、1 層に相当する。電流刺激は、刺激装置によりパルス幅 200 μs の二相性電荷平衡パルスからなるトレインを用いた。

実験 1 では 8-160Hz の範囲の様々な周波数で V1 野を刺激したときの神経活動を可視化し、応答領域の広がりや強度を定量化した。実験 2 では、80Hz のパルストレインを 125ms 区間に分節化し、区間における電気刺激期間のデューティ比を 100%から 0% (0%は 8Hz ト

レインに対応)まで 20%刻みで変化させたとときの神経活動を計測した。

(2) 目的(2)の実験に関する手法。

ラットを用いて(1)と同様のプロトコールで VSD イメージング実験を行った。ただし、刺激電極はガラス電極ではなくミシガンプローブを用いた。VSD イメージングを行うためには、ミシガンプローブを皮質表面にたいし水平に近い角度で刺入した。プローブは1本シャフト上に50ミクロン間隔で16個の刺激・記録点をもつタイプのものを利用した。各プローブ位置を選択し、1回の刺激では1か所のみから電流を通電した。刺激のプロトコールは(1)と同様である。VSD イメージング法も(1)と同様である。

新規刺激デバイスについては、刺激デバイスからの出力電流をガラス電極に送るように配線を行い、単パルスあるいは一定周波数のトレイン刺激を行った。これにたいするV1野の神経活動をVSD法で観察した。

(3)目的(3)に関する研究手法

ネコ視覚野からの記録を行った。動物を脳固定装置に固定し、頭部皮膚を切開後、頭蓋骨をドリルで切開し、第一次視覚野を含む範囲の脳表を露出させた。記録には4本シャフトのミシガンプローブを利用し、多数の細胞活動を同時記録した。各シャフトは0.2ミリ間隔で8つの記録点をもち、シャフトは0.4mm間隔で並ぶ。これを皮質表面に垂直に刺入することにより、幅1.2mmの範囲で、皮質の6層全層の細胞から活動を計測でき、様々な位置関係にある細胞ペアの同期状態を相互相関法により調べた。

4. 研究成果

(1)目的(1)の実験について

[実験1] 8Hz、40Hzにおいては、刺激の時間周波数にロックした強い一過性応答がみられたが、80Hz、160Hzではこのような成分はみられなかった。一方40Hz以上では持続的応答がみられた。一過性応答と持続性応答を分離して解析したところ、いずれにおいても、刺激周波数を大きくするにつれて応答範囲が狭くなる傾向がみられた。以上の結果から、周波数を大きくするにつれて持続的で局在性の強い神経活動が誘発できることがわかった。

[実験2] デューティ比が0%から60%では一過性の成分(セグメント長に対応した8Hz成分)がみられるとともに、デューティ比が20%-60%では十分大きな持続性成分も含まれていた。デューティ比が80%から100%では持

続性成分のみがみられた。2つの成分の和の応答領域の面積を調べたところデューティ比20-40%から100%の範囲で大きな変化はみられなかった。また応答強度もこの範囲で大きく変化はしなかった。

(2) 目的(2)の実験に関して

ミシガンプローブを配置し、電気刺激にたいする応答をVSDイメージング法で観測するシステムを構築することはできた。

数回の実験を行ったが、いずれの場合も、神経組織を十分興奮させることができなかった。ミシガンプローブの場合は、ガラス電極を2/3層にのみ刺入するのと異なり、全層に渡って刺入するため、ミシガン電極が脳組織を損傷したためと考えられる。

MEIセンターで開発された40V耐圧20チャンネル高インピーダンス刺激デバイスの性能評価を行った。新規デバイス性能評価の実験系を作成し、このデバイスにガラス電極を装着し、10 μ Aパルスにたいして十分な神経応答が得られることを確認した。

(3)目的(3)の実験に関して

相互相関ヒストグラムを詳細に分析することで、皮質のどの層においても0.4mm以内の局所の強い結合に基づく同期発火と、広い範囲の弱い結合に基づくゆるやかな同期発火があることがわかった。後者については4層内で最も弱く、また4層と他の層との相関は弱い傾向がみられた。またこの同期発火は遅延がみられ、上の層の細胞ほど遅れて発火する傾向があった。このことはこの結合は高次視覚野からのフィードバックに基づくもので、ボトムアップ的な視覚情報処理には深く関与していないと思われる。一方、局所の強い同期は網膜からの視覚情報を細胞集団で協調的な伝達するのに関与していると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計4件)

1. Tanaka H, Tamura H, Ohzawa I. Spatial range and laminar structures of neuronal correlations in the cat primary visual cortex. J. of Neurophysiol. (査読有) 112(3): 705-718 (2014)

2. 亀田 成司, 林田 祐樹, 田中 宏喜, 八木 哲也. 高インピーダンス神経電極用多チャンネル電流刺激チップの開発. 計測自動制御学会論文集(査読有) 50(8), 594-601, 2014. 公益社団法人 計測自動制御学会

3. Hayashida Y, Takeuchi K, Ishikawa N, Okazaki Y, Fehervari T, Tanaka H, Yagi, T. Voltage-Sensitive Dye Imaging of the Visual cortices responding to electrical pulses at different intervals in mice in vivo. The 36th international conference of the IEEE engineering in medicine and biological society (EMBC) (査読有) pp.402 - 405. Aug. 2014.

4. 竹内浩造, 林田祐樹, 石川直裕, 田中宏喜, Tamas Fehervari, 岡崎祐香, 八木哲也. マウス視覚野 V1 電気刺激に惹起される応答の領野内および領野間伝播特性. 電子情報通信学会技術研究報告. MBE, ME とバイオサイバネティクス (査読無) 113(499), 7-12, 2014-03-10

[学会発表](計 8 件)

1. Tanaka H, Tamura H, Ohzawa I. Vertical and horizontal structures of neuronal correlations in the cat primary visual cortex. Society for Neuroscience 2015. 10.18 (Chicago, USA)

2. 田中宏喜, 田村弘, 大澤五住. ネコ V1 野における時間スケールの異なる神経活動相関の層構造. 日本神経科学大会 2015. 7.28 (神戸国際会議場, 神戸)

3. 竹内浩造, 林田祐樹, 石川直裕, 田中宏喜, Tamas Fehervari, 岡崎祐香, 八木哲也. マウス視覚野 V1 電気刺激に惹起される応答の領野内および領野間伝播特性. 第17回視覚科学フォーラム 2013. 8.5 (立命館大, 京都)

4. Kameda S, Hayashida Y, Tanaka H, Akita D, Iwata A, Yagi T. A Multi-channel Current Stimulator Chip Intended for a Visual Cortical Implant. Conference: 35th Annual International IEEE EMBS Conference 2013. 7.30. (Osaka)

5. 亀田成司, 林田祐樹, 田中宏喜, 秋田大, 八木哲也. 視覚野刺激型人工視覚のための多点電流刺激 VLSI の開発. 日本神経科学大会 2013. 6.22 (京都国際会館, 京都)

6. 田中宏喜, 石川直裕, 竹内浩造, Tamas Fehervari, 林田祐樹, 八木哲也. 皮質電気刺激パルストレインの分節化による神経活動の維持効果
電気学会. 電気・情報・システム部門大会講演 企画セッション神経工学 TC3-18
2012. 9.6 (弘前大学, 弘前)

7. 亀田成司, 林田祐樹, 田中宏喜, 岩田穆,

八木哲也.
人工視覚のためのマイクロユニバーサルバイオデバイスの開発
電気学会. 電気・情報・システム部門大会講演 企画セッション神経工学 TC3-15
2012. 9.6 (弘前大学, 弘前)

8. 田中宏喜, 石川直裕, 竹内浩造, Tamas Fehervari, 林田祐樹, 八木哲也.
高周波トレインを用いた皮質微小電気刺激の応答局在性と人工視覚に向けた消費電力低減化.
第16回視覚科学フォーラム 抄録集 p. 17.
2012. 8.25 (埼玉医大, 埼玉)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 宏喜 (TANAKA, Hiroki)
京都産業大学・コンピュータ理工学部・准教授

研究者番号: 40335386