

し、アレイ状に配置したものを大脳運動皮質に対して慢性的に埋め込んだ。この配置・構造は電極の種類によって異なるが、いずれも電極間の間隔は  $100\mu\text{m}$  以上であり、計 22 本の電極が運動皮質上の  $2\text{mm}^2$  の範囲に深さ  $1.5\text{mm}$  まで刺入された。この電極を介して生体外に導出された神経細胞の細胞外電位に対し、Multichannel Systems 社製生体アンプ PGA-64 によって増幅・フィルタリング (5,000 倍; 通過帯域  $500 - 3,000\text{Hz}$ ) を施し、National Instruments 社製 A/D 変換 PCI ボード PCI-6259 を介しコンピュータ (CPU クロック  $3.0\text{GHz}$  相当搭載) に取り込んだ。

以上によって得られる信号は、計測点近傍の細胞外電位に加え、外来のノイズが混合して記録されたものであったため、次にスパイク状の波形に着目した特徴量抽出と波高に基づく分類を行い、個々の神経細胞に対応する発火頻度を算出した。

一方、実際のラット歩行状態 (速度および方向変化) を「実測値」として与えるため、KEYENCE 社製画像計測・解析装置 CV-3500 を用い、縦横  $90\text{cm} \times 120\text{cm}$  で仕切られた平面上におけるラットの位置を記録した。

(2.2) 歩行推定およびモデル同定 ラットが自らの身体を用いて自発的に歩行するとき、その意図と動作とは一致しているものと仮定し、神経発火との対応関係を以下のモデルによって記述した。

$$x_{t+1} = Fx_t + Gw_t \dots\dots\dots (1)$$

$$y_t = H_t x_t + \mu_t \dots\dots\dots (2)$$

ここで、 $x_t$  は時刻  $t$  において意図された歩行動作に対応する変数、 $y_t$  は同じく時刻  $t$  における神経細胞毎の発火頻度を要素とするベクトルである。また、 $Gw_t, \mu_t$  は歩行動作および神経発火頻度の時間変化に影響する外的要因を包含する変数であるが、十分に長い時間の自由行動によって均質化されるものと仮定し、ガウス性白色雑音とした。このとき、遷移行列  $F$  は神経発火の変化に無関係な歩行速度の変化特性を示し、事前に計測した歩行変化特性を元に固定値とした。一方、出力行列  $H_t$  は神経発火と歩行動作とを相關付けるものであり、以下の通り適応的に同定を行った。

我々のシステムでは歩行動作特徴量  $x_t$  と計  $N$  個の神経発火頻度  $y_{n,t} (n = 1, \dots, N)$  が同時記録される。このとき、出力行列  $H_t$  の各行  $h_n^{(t)}$  に対して

$$h_n^{(t+1)} = h_n^{(t)} \dots\dots\dots (3)$$

$$y_{n,t} = x_t h_n^{(t)} + \mu_t \dots\dots\dots (4)$$

のような状態空間表現を与えると、Kalman filter<sup>(3), (2)</sup> を構成する時間更新アルゴリズムによって、1 処理単位毎に  $H_t$  の各要素が更新される。

(2.3) 実験条件 本稿では、自由行動ラットの神経発火頻度から歩行速度の推定を行う状況を想定し、両者の相関関係を適応的に同定する。はじめに、初期値として出力行列  $H_t$  の全ての要素を 1 として初期化した ( $h_n = 1$ )。次

に、実験平面上を自由行動するラットの歩行速度  $x_t$  と  $N = 13 - 25$  個の神経が生じた発火頻度  $y_{n,t} (n = 1, \dots, N)$  の時系列を用い、(3), (4) 式によって  $H_t$  を更新した。ただし、 $t$  の更新頻度および発火頻度の算出時間幅は  $100\text{ms}$  とし、試行開始から  $50\text{s} - 70\text{s}$  の区間を対象にパラメータの変化を観察した。

なお、以上の方法のうち実験動物の取り扱いについては、東京大学動物実験委員会の定めるガイドラインに沿って行った。

### 3. 結果

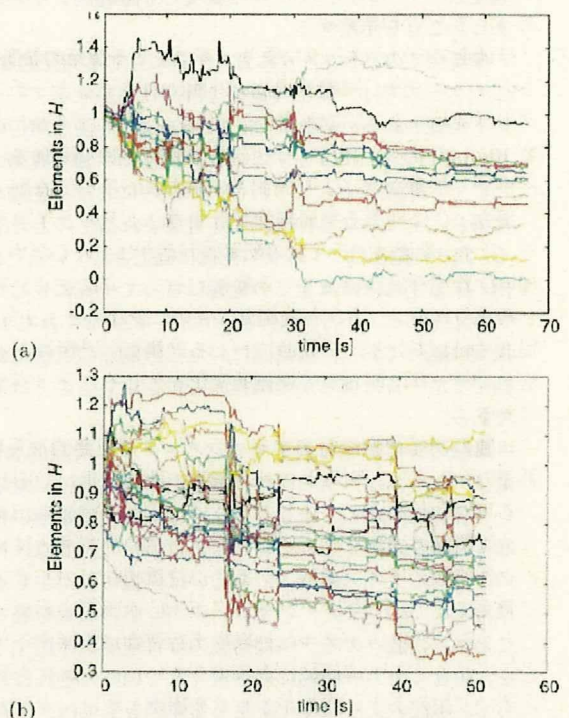


Fig. 2 Adaptively updated model parameters on 2 trials on different rats.

図 2 に典型的なパラメータ変化を示した 2 例の試行を示す。各色のプロットは、同定されたパラメータ  $h_n^{(t)}$  に対応する。まず (a) においては、冒頭 20 s 間において値の激しい変動が見られた後、30 s 頃からは各パラメータ毎に  $\pm 0.1$  程度の範囲に収束している様子が見られた。一方、(b) においても同様に冒頭 15 - 20 s 間の変動の後、25 s 頃にかけて一旦値の収束が見られたが、その後も 30 s, 40 s 付近に大きな値の変動が生じた。

また、他の例を含め大域的なパラメータ変動の特徴を整理すると、

- (1) 時間とともに滑らかに値の推移するパラメータ変動
- (2) ほぼ全てのパラメータに亘り一斉に生じる突発的な変動

(3) 単独の神経細胞に対応するパラメータの突発的な変動

の 3 種類に大別された。

#### 4. 考察

上述した 3 種類のパラメータ変動の要因としては、実験の状況等から以下のようなものが考えられる。

時間とともに滑らかに値の推移するパラメータ変動：これは、各試行の冒頭区間においても見られるように、神経発火と歩行速度との相関関係が一定していないことを示している。特にこの状況が継続することは、計測された神経発火パターンが、モデルの表現しうる範囲よりも複雑であったことを示唆する。

ほぼ全てのパラメータに亘り一斉に生じる突発的な変動：このケースでは、細胞外電位を計測に由来するアーチファクトが疑われる。細胞外電位計測では、計測点周辺の直径数  $10\mu\text{m}$  の球内に存在する神経発火活動が強く視測されるため<sup>(1)</sup>、振動などにより計測点の脳内における位置がずれた場合、全く異なる神経細胞が計測されるものと予想される。我々の電極はアレイ状の配置に固定されているため、電極の位置ずれはほぼ全ての電極に亘って一斉に生じたものと考えられる。一方、各計測点は互いに少なくとも  $100\mu\text{m}$  程度は離れており、広範囲にわたる計測点の近傍にある細胞全てが一斉に何らかの機能的変化を生じることは不自然である。

単独の神経細胞に対応するパラメータの突発的な変動：最後のケースは、何らかの神経細胞の機能変化に対応している可能性がある。上述したように、我々の電極の相対的な位置関係は固定されているため、特定の計測点・神経にのみ外的なノイズが混入、あるいは位置ずれが生じる状況は考えにくい。また、パラメータが一応の収束を経ていることから、我々のモデルは神経の歩行速度に相関する特性を、少なくとも一時的には表現できていた。それにも関わらず、上記のような変化を生じる要因としては、歩行とは異なる動作が生じた結果として神経細胞の発火パターンに差異が生じた可能性や、身体・環境の変化に応じ、同じ動作に対する制御指令が改変された可能性が挙げられる。現時点で、これらの要因を特定することは出来なかったが、今後、車載ラットと自由行動ラットとの間で上記の変化が生じる頻度を比較することで、条件の絞り込みを行えると考えられる。

#### 5. おわりに

本稿では、神経信号のパターンと身体動作との対応付けにおいて、両者の相関関係の時間変化を状態空間表現モデルのパラメータとして視測し、その変化様態の特性について検討を行った。今後、ラットを RatCar 車体上に搭載した状態での評価を実現し、brain-machine interface の存在が脳機能に対して及ぼす影響を明らかにしていきたい。

#### 謝 辞

本研究の一部は、厚生労働省科学研究費補助金 (H20 - ノノ - 一般 - 033)、文部科学省科学研究費補助金 (基盤研究 (A) 課題番号 2046045、特定領域研究「移動知」、若手研究 (スタートアップ) 課題番号 20800016) の助成を受けて行われた。

#### 参考文献

- (1) O. Fukayama, N. Taniguchi, T. Suzuki and K. Mabuchi: "RatCar System for Estimating Locomotion States using Neural Signals with Parameter Monitoring: Vehicle-formed Brain-Machine Interfaces for Rat", *Proc. 30th Annual Intl. IEEE EMBS Conf.*, pp. 5322 - 5325 (2008).
- (2) 片山 徹: 新版 応用カルマンフィルタ, 朝倉書店 (2002).
- (3) R. E. Kalman and R. S. Bucy: "New Results in Linear Filtering and Prediction Theory", *Trans. ASME, J. Basic Eng.*, vol. 83D, no. 1, pp. 95 - 108 (1961).
- (4) G. Buzsaki: "Large-scale recording of neuronal ensembles", *Nature Neuroscience*, vol. 7, no. 5, pp. 446 - 451 (2004).

## EM アルゴリズムとスパース性を利用した神経スパイクソーティング手法

杉本 貴大 浅野 航平 深山 理 鈴木 隆文 満洲 邦彦

\* 東京大学大学院情報理工学系研究科, 〒 113 - 8656 東京都文京区本郷7-3-1

sugimoto@koseki.t.u-tokyo.ac.jp, Kohei\_Asano@ipc.i.u-tokyo.ac.jp,

Osamu\_Fukayama@ipc.i.u-tokyo.ac.jp, t.suzuki@i.u-tokyo.ac.jp,

Kunihiko\_Mabuchi@ipc.i.u-tokyo.ac.jp

### 要旨

近年, 脳の情報処理機能の解明のための研究が活発に行われ, また, Brain-Machine Interface が開発されて注目を集めている. 多細胞活動記録法はこれらの研究, 応用を支える基盤技術であるが, 観測信号には複数の神経細胞の活動が混在するため, 各細胞の活動を弁別するスパイクソーティングと呼ばれる操作が不可欠である. スパイクソーティングの研究は 1920 年代から行われており, 様々な手法が既に提案されている. しかし, それらの多くが, 同時に複数の神経細胞が発火し, 足しあわされることでスパイク波形が大きく変化するスパイクオーバーラップ問題と, 単一の細胞からの信号であってもスパイク波形が非定常に変化するスパイク波形の非定常問題という 2 つの問題点に対応できていない. 独立成分分析を用いるスパイクソーティング手法はこれら 2 つの問題点を克服する有効な手法として挙げられるが, 計測点よりも分離すべき細胞数が多くてはいけないという制約が存在する. 本論文では, 複数の神経細胞が同時に発火する割合は無視できるほど小さいという神経信号のスパース性を仮定し, EM アルゴリズムを適用した新しいスパイクソーティングの手法を提案する. 提案手法により, 分離すべき細胞数が計測点より多い場合でも正しく神経信号を弁別でき, スパイクオーバーラップ問題やスパイク波形の非定常問題に対応できる可能性があることを, 実際に動物から計測した信号, 及びシミュレーションデータを使用した評価実験により示す.

# レバー押しに同期した電気刺激による ラット一次運動野における可塑的变化の誘発の検討

## Induction of Synaptic Changes in the Rat Primary Motor Cortex through Electrical Stimulation synchronized with Lever Control

小濱 卓也, 深山 理, 鈴木 隆文, 満淵 邦彦

Takuya KOHAMA, Osamu FUKAYAMA, Takafumi SUZUKI, Kunihiko MABUCHI

東京大学大学院情報理工学系研究科

Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo

**Abstract** In this study, we investigated the conditions inducing synaptic changes through intracortical microstimulation synchronized lever control in the rat. Invasive brain-machine interface approaches are generally based on the process containing acquiring neural signals by implanted electrodes, estimating movement intention by using these signals and controlling an artificial device. In this process, it's difficult always recording neural signals from all electrodes, even though it is expected to acquire as many signals as possible to estimate more precisely. To avoid causing extra damage to the brain by useless electrodes, we examined whether induction of synaptic changes artificially occurred in the rat primary motor cortex through intracortical microstimulation.

### 1. 背景, 目的

神経活動から、運動・感覚情報を再構成する brain-machine interface(BMI)は、筋萎縮性側索硬化症(ALS)や脊髄損傷、四肢を失った方々を支援する技術として、注目されている[1]。櫻井らによれば、BMIには、大きく分けて、運動出力型、感覚入力型、直接操作型の三種類が存在する[2]。このうち、運動出力型では、生体の脳から神経活動を読み出し、読み出した信号から生体の状態を推定し、その推定結果を外部機器へ出力するというプロセスを経ることが一般的である。この種の研究では、脳の神経活動と外部機器での推定出力結果間で、誤った推定による誤差が度々生じる。この誤差の解消には、視覚フィードバックを用いた事例や[3]、脳自体の可塑的な変化による事例等が存在する[4]。

この可塑的な変化は、シナプス間の結合の増強と抑制が時々刻々と起こることによって生じる。脳はこのシナプス間の増強、抑制により自身のネットワークを絶えず更新し、情報処理を行っている。この変化は、脳の自発的な作用によるものだが、人為的に脳に電気刺激を加え、変化させようという研究が多数報告されている。その中でも Jackson らは、2つの応答の異なるニューロン間を、Neurochip という電子装置を用いて繋ぎ、2つのニューロンが同じ応答を示すよう誘導するというを行った[5]。彼らの研究を踏まえると、上記のBMIにおける誤差を、神経活動自体を人為的に変化させることにより効率良く解消することが期待出来る。

しかしながら、Jackson らの研究においても、神経活動を人為的に変化させるには、生体の状態を明確に推定出来るような、規範となるニューロンの存在が依然として不可欠である。このようなニューロンが存在するからこそ、他のニューロンの応答を、その規範となるニューロンの応答へと誘導することが可能となるからである。本研究では、この点に着目し、そのような規範となるニューロンが存在しない状況下でも、特定の運動指令と同期して電気刺激を与えることで、刺激したニューロンの応答をその運動に関連した応答を示すよう誘導出来ないかを検討している。本稿は、ラットにレバー押しに同期した電気刺激を与えた際の、その刺激前後におけるニューロン応答の解析結果について紹介する。

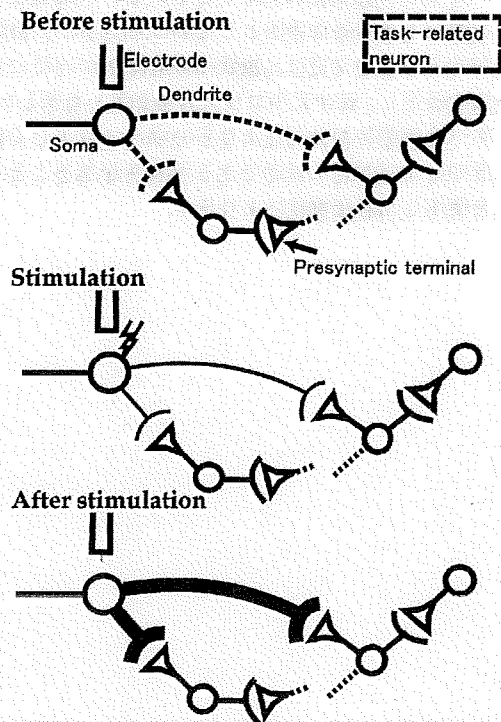


Fig.1 Expected changes in synaptic level through the stimulation. We assume that the recorded neurons by electrodes are weakly connected to task-related neurons. This idea is referred from Jackson et al.(2006).

### 2. 方法

#### 2.1 実験動物, 装置

- ・ 18 週齢の Wistar 系オスラットを用いた。電極の埋め込み手術は東京大学動物実験委員会の定めるガイドラインに基づき、ペントバルビタール麻酔下で行われた。
- ・ 神経信号は、生体アンプ(Multichannel Systems PGA-64)を通じて 5000 倍に増幅、300-5000Hz に帯域制限され、A/D ボード(National Instruments PCI-6259E)を介して 25kHz サンプリングにてコンピュータに取り込まれた。

刺激装置には日本光電を用い、アイソレータを介して刺激を行った。

## 2.2 課題

実験は計測 20min, 刺激 20min, 計測 20min の流れで行った。課題の施行はトレーニング含め, Med Associates Inc.社の一辺約 30cm 立方のケージ内で行った。ケージ内にはレバーと給餌装置が設置されている。ラットがレバーを押すと, 給餌装置が作動し, 報酬として, チョコレート水 0.1cc が供給された。レバー押しの課題時間は 20min とし, その間にレバー押し回数が 100 回程度をこなせるようになったラットを実験対象として選別した。

刺激はレバー押しに同期して, 全ての電極に対して同時に与えた。一つの刺激セットを 30 回繰り返したものを 1 セッションとし, レバー押し 1 回につき 1 セッション分刺激を行った。刺激セットは 5ms で, 双極性の負電圧, 正電圧の順で波形を設定した。それぞれの振幅は 3 : 1 で, 持続時間を負電圧は  $500 \mu\text{s}$ , 正電圧を  $1500 \mu\text{s}$  とし, 全体として電荷移動を相殺するよう設定した。

## 2.3 記録

電極は FHC 社のタングステン電極(型番:26-05-1, 電極径  $100 \mu\text{m}$ , 電極インピーダンス  $2 \sim 5\text{M}\Omega$ )を使用した。電極の刺入部位は, Swanson(2003)を参考とし, 左半球の第一次運動野の V 層を狙った[6]。ブレグマから前側 1.0mm, 外側 2.0mm の点と, 同じくブレグマから前側 2.0mm, 外側 3.0mm の点の 2 点を対角線とする正方形の 4 頂点に電極を刺入した。また, ブレグマから前側 1.0mm, 外側 3.0mm に位置する電極をリファレンスとした。

## 2.4 解析

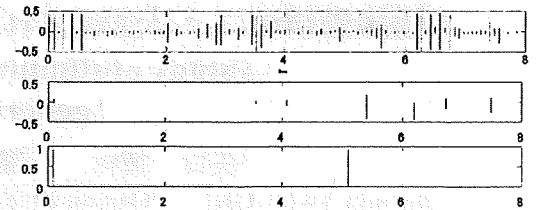
解析は MATLAB(Mathworks 社)を用いて行った。計測された神経信号について, スパイク弁別の為, まずノイズの標準偏差の 8 倍を閾値とし, それ以下の信号を除外した。その後, アーチファクトを除去する為, 全電極で同期して計測された信号について除去した。

上記のような信号処理を行った後, 刺激前後の計測における神経活動を Mann-Whitney 検定を用いて解析した。

## 3. 結果

一例として, 刺激前の波形と, レバー押しタイミングについて Fig.2 にて示した。上段は習得した波形, 中段は上段の波形にノイズ除去, アーチファクト除去を施した波形, 下段はラットのレバー押し時の時刻をパルス波形で表した。アーチファクトは, 他の電極にも同期して表れている波形を除去することで行った。図の上段と下段をように, かなりの部分がアーチファクトとして存在していた。

Mann-Whitney 検定では, 有意な変化は見られなかった。これは, アーチファクトが波形に多く存在するため, 本来ニューロンが発火している時刻での活動も余計に除去してしまった可能性がある。また, 電極によってはアーチファクト除去の結果, 波形にほとんど神経活動が見られない場合もあった。



## 腱振動刺激により生成される運動感覚の明瞭化のための刺激条件の検討

### A study of stimulus condition for clear proprioception generated by tendon vibration

矢口 博彬, 深山 理, 鈴木 隆文, 満淵 邦彦

Hiroaki YAGUCHI, Osamu FUKAYAMA, Takafumi SUZUKI, Kumihiko MABUCHI

東京大学

The University of Tokyo

**Abstract** Feedback of movement sensation from artificial limbs to the nervous system is promising to improve the function of artificial limbs. Vibration to the distal tendon can induce movement illusion, but evoked sensation is often ambiguous. If vibration to the proximal tendon can also induce movement illusion, movement illusion may be evoked clearly by combination of vibration to the distal and proximal tendon. We vibrated the proximal tendon of the biceps to test whether the vibration can evoke movement illusion. The vibration evoked movement illusion, although the illusion was ambiguous.

## 1. 背景

筋電位や神経活動電位のような生体信号を利用することで、装着者が意図するだけで直感的に操作可能な義手の開発が進められている。そのような義手に運動感覚のフィードバック機構を持たせることは、義手の運動制御の精度向上に資すると考えられる。皮膚上から腱に対して機械的な振動刺激を与えることで、振動された腱に繋がる筋肉が伸展する運動の感覚を生成することができる。例えば、図1のように肘窩付近に振動子を当て、上腕二頭筋の遠位側の腱(以後、遠位腱と書く)を振動すると、あたかも前腕が伸展するかのような感覚(運動錯覚)を生む<sup>[1],[2]</sup>ことが知られている。しかし、腱への振動刺激によって生成される運動錯覚は、不明瞭なものである場合が多く、刺激を行った時に被験者が運動を感じられない場合<sup>[3]</sup>も存在する。さらに、義手への応用を考えるならば、腱振動刺激は腱が失われている場合には適用できず、特に遠位腱への振動は使用できる状況が制限される。

運動感覚の生成には、筋紡錘及び皮膚機械受容器の活動が重要な役割を果たすとされる。腱への振動刺激は筋紡錘を活動させ、周辺の皮膚や関節への振動では筋紡錘は活動しないことから、腱振動刺激は筋紡錘を活動させることによって運動錯覚を生成していると考えられている<sup>[2]</sup>。一方、微小電極を用いて末梢神経軸索を刺激する実験の結果から、単一の筋紡錘束の求心性神経線維を刺激しても、運動錯覚を生成することはできないことが分かっている<sup>[4]</sup>。これらのことから、腱振動刺激によって生成される運動感覚が不明瞭になる原因のひとつは、筋紡錘の集団としての活動を誘発できていないためと考えることができる。また、遠位腱ではなく、近位側の腱あるいは腱への移行部に近い位置の筋(以後、近位腱周辺周辺と書く)を振動することによっても、筋紡錘を活動させ、運動錯覚の生成が可能であると推測される。近位腱周辺周辺への振動によって運動錯覚を生成可能であるなら、これを遠位腱への振動と適切に組み合わせれば、より明瞭な錯覚を確実に生成できる可能性が高い。加えて、近位腱周辺への振動は、遠位腱への振動と比べて多くの場合に運動感覚提示手法として利用可能である(例えば、上腕の半ばで腕を切断した方に対して、近位腱への振動は肘の屈曲/伸展の感覚を提示できるが、遠位腱への振動は不可能)。

以上のことから、本研究では上腕二頭筋の近位腱周辺を振動し、近位腱周辺への振動の、運動感覚提示手法としての有効性を調べた。

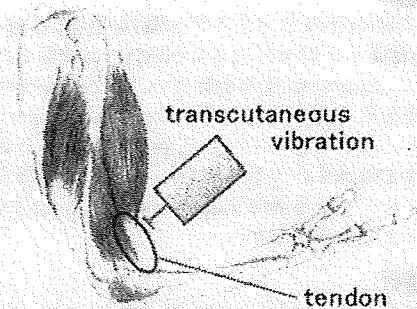


Fig.1 Tendon vibration

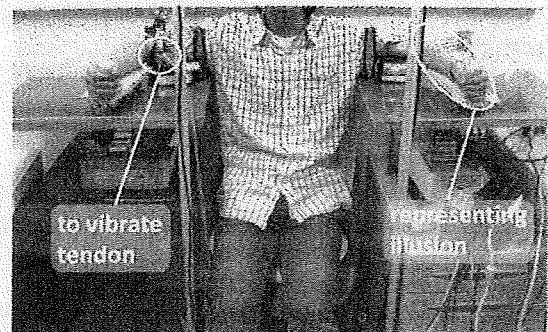


Fig.2 A picture of experiment

## 2. 実験方法

20代の健康な男性5名に対し、右腕上腕二頭筋の遠位側及び近位腱周辺への経皮振動刺激を行った。ただし、上腕二頭筋の腱は三角筋及び大胸筋の内側に隠れて振動することができないため、なるべく腱に近い位置で筋を振動した。被験者は図2のように椅子に座り、支持台に乗せることで両腕を水平に保たせた。前腕を乗せる支持台にはキャスタがついており、肘関節を自由に伸屈させることができる。近位腱周辺への振動は腋窩付近に振動子を当て、遠位腱への振動は肘窩付近に振動子を当てて行った。振動子はダイヤモンドシステム社の機械刺激装置 DPS-270 に付属のものを用い、先端に1×2cmの亚克力板を取付けた。振動波形は正弦波とし、振幅1.0mmp-p、周波数50Hzとした。この振動を、近位腱/

遠位腱に対してそれぞれ 20 回与えた。腱への振動中に被験者が前腕の伸展を感じた場合、その運動を左腕で再現させ、モーションキャプチャシステムを用いて両腕の肘関節の回転速度を記録した。さらに、1 回の刺激毎に前腕の伸展を感じたかどうか、被験者に口頭で回答させた。

### 3. 実験結果

上腕二頭筋近位腱周辺への振動刺激(腋窩付近での振動)では、全試行の 68% (68/100)で運動錯覚を引き起こした。一方、上腕二頭筋遠位腱への振動刺激(肘窩付近での振動)では、全試行の 93%(93/100)で運動錯覚を引き起こした。また、腱への振動によって錯覚された前腕の運動の速度は、各被験者毎に平均値を取ると図 3 のようになった。5 人中 4 人の被験者は、遠位腱を振動した時と比べて、近位腱周辺を振動した時にはゆっくりと運動する錯覚を感じていることが分かる。

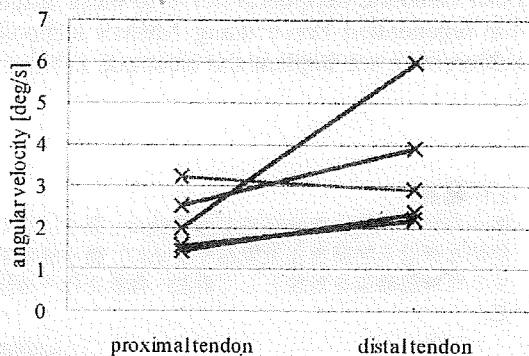


Fig.3 The velocity of the illusory movement of the elbow extension evoked by tendon vibration, averaged over each subjects

### 4. 考察

近位腱周辺への刺激によって被験者が運動錯覚を感じた割合は、遠位腱を刺激した場合と比べて小さかった。加えて、5 人中 4 人の被験者は、近位腱周辺を振動した時、遠位腱を振動した時と比べてゆっくりとした運動の錯覚を感じた。これらの結果は、近位腱周辺への振動刺激は、遠位腱への振動刺激と比べて効果的ではないが、運動感覚提示手法として利用可能であることを示唆する。

近位腱周辺への振動が、運動感覚提示手法として遠位腱への振動と比べて効果的でないことの原因は、以下に述べる点が考えられる。ひとつに、近位側では腱ではなく筋を刺激したこと、それから上腕二頭筋は近位側で長頭と短頭に分かれており、腕を水平に持ち上げた状態では、長頭が短頭の内側に隠れることである。これらの理由により、遠位腱を振動する場合と比べ、近位腱周辺への振動では効率良く筋紡錘を活動させることができなかつた可能性がある。あるいは、経皮的な振動刺激では、筋紡錘だけでなく振動子直下の皮膚機械受容器をも活動させる。遠位腱への振動では、実際に前腕を伸展する際に変形する部位の皮膚を振動している。皮膚変形と振動という刺激の差異はあるものの、振動によって起こる皮膚機械受容器の活動が、遠位腱への刺激では運動感覚の生成を促進していた可能性がある。

### 5. まとめ

本研究では、上腕二頭筋の近位腱周辺と遠位腱に対して経皮的な機械的振動を加え、近位腱周辺を振動することの運動感覚提示手法としての有効性を調べた。近位腱周辺への振動では 68%の試行で前腕が伸展するという錯覚を引き起こし

た。一方、遠位腱への振動では 93%の試行で同様の錯覚を引き起こした。さらに、近位腱周辺への振動によって錯覚される前腕の運動の速度は、遠位腱への振動によって錯覚される前腕の運動の速度よりも小さかった。これらの結果から、近位腱周辺への振動は、遠位腱への振動と比べて効果的ではないが、運動感覚提示手法として利用可能であることが示唆される。

今後は、近位腱周辺への振動刺激が運動感覚生成の観点から遠位腱への振動刺激と比べて効果的でなかった原因を究明したい。同時に、遠位腱への振動と近位腱周辺への振動を組み合わせ、より明瞭な錯覚を確実に生成可能な刺激方法を探っていきたくと考えている。

### 参考文献

- [1] G.M.Goodwin, D.I.McCloskey and P.B.C.Matthews: "The contribution of muscle afferents to kinaesthesia shown by vibration induced illusions of movement and by the effects of paralysing joint afferents", Brain Vol.95, 705-748, 1972
- [2] J.P.Roll and J.P.Vedel: "Kinaesthetic role of muscle afferents in man, studied by tendon vibration and microneurography", Exp.Brain.Res. 47, 177-190, 1982
- [3] D.F.Collins and A.Prochazka: "Movement illusions evoked by ensemble cutaneous input from the dorsum of the human hand", J.Physiol., 857-871, 1996
- [4] G.Macefield, S.C.Gandevia and D.Burke: "Perceptual responses to microstimulation of single afferents innervating joints, muscles and skin of the human hand", J.Physiol., 113-129, 1990

## 流路構造を備えた神経再生型電極の開発 —軸索再生の評価と電極配置の検討—

### Development of Neural Interfaces for Regenerated Nerve with Microfluidic - Evaluation of Axonal Regeneration and Deliberation of Electrode Placement -

山崎 博人, 小竹 直樹, 伊藤 孝佑, 鈴木 隆文, 満淵 邦彦

Hiroto YAMAZAKI, Naoki KOTAKE, Kosuke ITO, Takafumi SUZUKI, Kunihiko MABUCHI

東京大学

The University of Tokyo

**Abstract** Prosthetics such as artificial arm can be controlled according to amputee's intention by measuring an electric signal that transmits in peripheral nerve and can generate artificial sensations by stimulating peripheral nerve. There are various types of neural interfaces to record from and stimulate peripheral nerve, however the neural interface that can measure enough neural signal and can stimulate peripheral nerve to these usages doesn't exist. In this study, we developed the neural interfaces for regenerated nerve using MEMS technology. The electrode has fluidic channels as regenerate route of nerves. Moreover, we implant the electrode in tibial nerve of rat to evaluate the axonal regeneration through the channels.

#### 1. まえがき

末梢神経では各筋への指令や、体全体に多数存在する感覚器官が検出・取得した外部情報が神経信号として伝達されている。近年、末梢神経から神経信号を計測し、この情報によって義手等を意図通り自在に制御する研究や、末梢神経に電気刺激を行い、神経信号を誘発させることにより触覚などの感覚を再現させようとする研究がさかんに行われている。[1]このような研究を目的として現在、様々な神経電極が開発されてきたが[2]、義手等を装着者の意図通り自在に動かし、また自分の腕が触られたように感覚を再現させるために十分な情報量を末梢神経において信号入出力しうる電極は存在しない。

そこで我々の研究室では、末梢神経において十分な情報量を入出力しうる可能性のある、微小流路を利用した神経再生型電極(以下流路電極)の開発を行っている。

本研究では、流路作製の再現性向上のための新しい工程を提案し、電極の作製を行い、埋め込み実験を行うとともに、電極配置について検討を行った。

#### 2. 微小流路を備えた神経再生型電極

末梢神経は切断した後、手術等により縫合することで中枢側から末梢側へ神経軸索が再生していく。図1のように末梢神経の再生を利用する電極を神経再生型電極と呼ぶ。神経軸索と物理的に強固に固定することができ、また多点計測が可能といった利点がある。

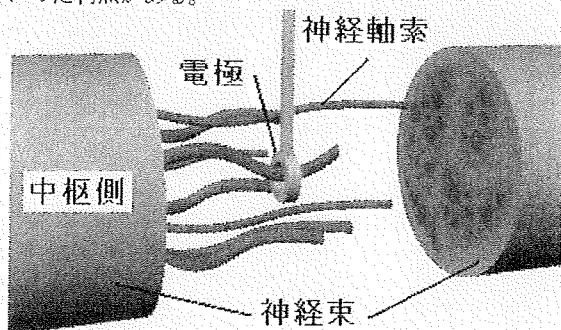


Fig.1 神経再生型電極の原理図

#### 2.1 概要

微小流路を利用した神経再生型電極は、図2に示すような立体的な構造の神経再生型電極である[3]。微小流路束を通り再生した神経軸索を対象として計測・刺激を行う神経電極である。

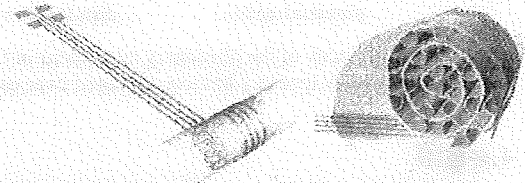


Fig.2 微小流路を利用した神経再生型電極

#### 2.2 利点

末梢神経には、有髄神経と無髄神経があり、有髄神経には、数ミリ間隔でランビエ絞輪が存在する。有髄神経を計測・刺激するにはランビエ絞輪の近傍に電極を配置する方が望ましいと考えられる。平面タイプの再生型電極では、電極近傍にランビエ絞輪が存在する可能性が低い。それに対し流路電極は数ミリの長さの流路内に複数の電極を設置することができ、電極の近傍にランビエ絞輪が存在する可能性が高くなるといった利点がある。

また流路内を、神経再生を促進させる薬品で満たすことにより、神経再生を促進ができると考えられる。さらに、一流路内に複数の電極を設置することにより、信号計測の面においても有利となると考えられる。

#### 3. 流路電極の作製

本研究で作製した電極は、ラットの脛骨神経を対象とし設計を行った。流路束全体の直径は脛骨神経の直径と等しく1mmとした。各微小流路は幅40 $\mu$ m、高さ40 $\mu$ m、流路長1.5mm、各流路間50 $\mu$ mとした。各電極には長さ300 $\mu$ m、幅30 $\mu$ mの電極が設置されている。

流路部分の材料には生体適合性の良いパリエンCを使用し、電極部分は金を使用した。



### 3.1 作製手法

電極は Micro Electro Mechanical Systems (MEMS) と呼ばれる技術を用いて作製した。流路電極の作製手順を図3に示す。最初にシリコンウェハー上にパリエレンコートを行い、フォトリソグラフィによって金配線を作製し、再びパリエレンコートを行い、フォトリソグラフィを用いて電極部分を露出させる図3(a)。次に、厚膜レジストとパリエレンによって図3(a)の構造を作製する。最後に、シリコン基板から剥離し巻いた後、厚膜レジストを除去することにより完成する。埋め込みの際にはシリコンチューブに挿入し、埋め込む。

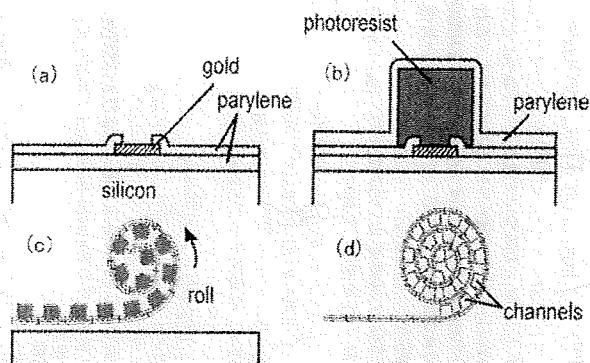


Fig.3 流路電極の作製工程

### 3.2 流路作製の問題点と解決法

従来手法で流路電極を作製すると、流路の天井部分が破壊されるといった問題があった。これは、厚膜レジストをパターニングすると図4(a)のような形状となり、その後の工程で流路両側の壁部分が削られてしまい、上部が壊れてしまうからである。

従来手法において、流路形成レジストが偶然に滑らかな形状となった時、流路が壊れずに電極を作製することができる場合があった。そこで、レジストを滑らかな形にする手法の開発を行った。

レジストは、熱により変形する。このことを利用し、パターニング後、加熱することにより流路形成レジストを滑らかな形状にするよう試み、適切な加熱温度・時間に関する条件の調査を行った。

その結果、120℃で20分熱することでレジストを滑らかな形状に変形させることに成功した(図4(b))。

提案手法により作製した流路電極を図6に示す。

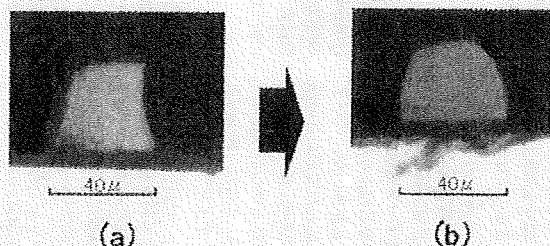


Fig.4 厚膜レジストの変形

ウェハーを切断後光学顕微鏡で観察

(a)パターニング後の厚膜レジストの断面

(b)120℃で20min熱した後の厚膜レジストの断面

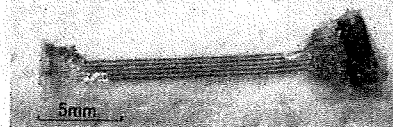
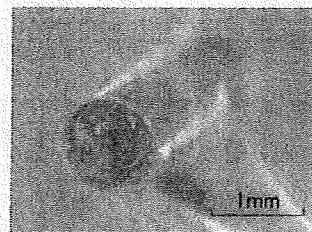


Fig.5 作製した流路電極

### 4. 電極配置の検討

末梢神経には有髄神経と無髄神経があり、運動情報と感覚情報は主に有髄神経を伝達し、その速度は20m/s~100m/sである。神経のある場所が発火している時間を1.0msとすると、波長は20mm~100mmとなる。

本研究で作製した流路電極は、各流路に長さ300μmの金電極が設置されている。この長さの電極で有髄神経を伝達する神経信号を計測する場合、電極の長さに対して波長が長いので、点電極で計測していると考えられ、電極のサイズには問題はない。しかし、流路内に多数の電極を配置する方が有利となるので、今後は電極の多極化を行う予定である。

### 5. 埋め込み実験

作製した流路電極を実際にラットの脛骨神経に埋め込み実験を行った。また同様に、流路構造を備えたシリコンチューブの埋め込み実験を行った。このチューブは内径1mmのシリコンチューブに内径165μmのポリイミドチューブが入っている構造となっている。

埋め込み後2ヵ月間再生させ、計測実験を行った後、再生部分を取り出し免疫染色により再生に関する評価を行う予定である。

### 6. 考察

本研究では、微小流路を利用した神経再生型電極の作製を行った。そして実際にラットに対し埋め込み実験を行った。今後は作製した電極を実際にラットに埋め込み、計測・刺激実験を行い、また神経軸索の再生についての評価を行う予定である。

### 参考文献

- [1] 櫻井 芳雄, 八木 透, 小池 康晴, 鈴木 隆文  
ブレイン-マシン-インタフェース, 工業調査会(2007)
- [2] Xavier Navarro, et al. A critical review of interfaces with the peripheral nervous system for the control of neuroprostheses and hybrid bionic systems Journal of the Peripheral Nervous System. 10,2005
- [3] T.Suzuki, N.Kotake, K.Mabuchi, S.Takeuchi. Flexible regeneration-type nerve electrode with integrated micro fluidic channels, Proceeding of International Conference on Microtechnologies in Medicine and Biology, 303-305 (2006)

# スパイク・ソーティングのための隠れマルコフモデルの変分推論

浅野航平 (PY)<sup>1</sup>, 深山理<sup>†</sup>, 鈴木隆文<sup>†</sup>, 満洲邦彦<sup>†</sup>

Kohei Asano (PY), Osamu Fukeyama, Takafumi Suzuki and Kunihiko Mabuchi

<sup>†</sup> 東京大学 大学院情報理工学系研究科

Kohei.Asano@ipc.i.u-tokyo.ac.jp

**Abstract**— The problem of spike sorting can be solved as learning process of a hidden markov model. Unlike most existing methods, the proposed method is immune to simultaneous firing and is applicable to multichannel recordings. In presence of many neurons, however, its computation is intractable. To get over this difficulty, variational inference is applied.

**Keywords**— Factorial Hidden Markov Models, Spike Sorting, Statistical Learning, Multichannel Neural Recordings

## 1 はじめに

神経信号は生体の器官間の伝達に大きな役割を持っていて、この信号を調べることは、生体が諸器官をどのように制御し、どのような計算処理を行なって生命活動を営んでいるか、という生物学的な観点からも興味があることであるし、近年では神経信号の意味を解釈し人工的な機器の動作に役立てることができているのではないかと、様々な工学的挑戦が行われている。[1]

神経信号、とくに神経細胞の持つ興奮性限における電氣的活動の結果は近傍に電極を置き増幅機まで誘導し記録することができ、計算機によるデータ処理が可能になる。神経信号がどのような意味をどのような形で保持しているかは依然わからないうことが多く、スパイクとよばれる単一の活動電位に対応した波形がどの時点での軸索から生じたか(発火時系列)が大きな情報を持っていると信じられていて、[2]しかし記録されたデータは単なる電位の時系列であり、そこから発火時系列を抽出すること(スパイク・ソーティング)は多くの場合容易ではない。

既存のアプローチについては[3]に詳しい、いずれにしても同時的発火やバーストと呼ばれる連続発火中のスパイク波形の変化への対応に課題がある。また観測点が複数ある場合に対応した手法は少ない。Herbstらはこの問題に対処可能な方法として隠れマルコフモデル (Hidden Markov Model; HMM) の考えを利用した方法を提案した。[4]しかし計算量が信号源の数  $M$  について指数的に増大するために、多きな  $M$  に対しては計算が行えないという問題があった。

本稿ではこのスパイク・ソーティング用の HMM に Fac-

torial HMM の構造があることを用い、変分推論の実行を試みる。 [5]

## 2 隠れマルコフ過程としての神経信号

ある時系列  $\{y_t | t = 0, 1, \dots, T\}$  が HMM  $(\pi, A, \varphi)$  に従うとは任意の時刻  $t$  に於いて値  $y_t$  を取る確率密度が、マルコフ過程  $(\pi, A)$  の同時刻に於ける状態  $x_t$  を用いて  $\varphi(y_t | x_t)$  の条件付き確率の形式を取ることをいう。ここでは神経活動の計測によって得られる観測時系列が隠れマルコフ過程であると見なせることを論ずる。

発火過程に関する幾つかの解析によると、スパイク間の間隔は以前の発火間隔に無関係でない、然ればある時刻における前回の発火時刻からの経過時間が与えられれば、次の瞬間に発火となる確率を与えることができる。そこで経過時間をサンプリング周期の単位で計したものを  $(0, 1, 2, \dots, K-1)$  を状態として採用することにしよう。ここで前回発火から十分な時間  $(K-1)$  が経過した後は次の瞬間に発火する確率は一定とする。状態の遷移は

- 1 だけ大きい状態に遷移する (発火しない)

- 状態 0 に遷移する (発火する)

の二つだけが存在する。ただし状態  $K-1$  で発火しない場合は自己遷移とする。また前回発火からある程度の時間の経過しないうちは、次の瞬間に発火する可能性は全くないこと (絶対不応期) に注意する。出力確率  $\varphi(y_t | x_t)$  は、発火波形を  $\{h_m(t)\}_{m=0}^{K-1}$  で与えられれば、

$$\varphi(y_t | x_t) = f_{\text{noise}}(y_t) \prod_{m=0}^{M-1} h_m(x_t^{(m)})$$

のようになる。ここで  $f_{\text{noise}}$  は観測ノイズの確率密度関数であり、通常正規分布にとる。また  $x_t^{(m)}$  は  $m$ -番目の神経の時刻  $t$  における状態である。

マルコフ過程の状態数は一つの信号源あたり  $K$  個あり、 $M$  個の信号源が系に含まれる場合、 $K^M$  個の状態を取り扱わなくてはならない。信号のスパイク波形が良くわかるようにサンプリング周波数を 100kHz に取るとすると、スパイク波形は 1ms 近く持続するから  $K = 100$  であり、 $M = 3$  程度で通常の計算機では学習の実行が不可能になる。

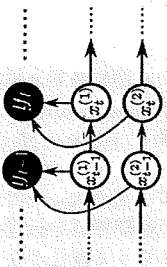


図 1: 発火過程  $x^{(t)}$  および  $y^{(t)}$ 。観測信号  $y$  のグラフィカルモデル。条件付き独立性が  $x^{(t)}$  および  $x^{(s)}$  から  $y^t$  に伸びる有向線分によって失われている。

## 3 変分推論

初期分布  $\pi_m$ 、遷移確率  $A_m$  および活動電位波形  $\{h_m(t)\}_{t=0}^{K-1}$  の  $m = 0, 1, \dots, M-1$  についての組を簡単に  $\theta$  と書く。いま確率過程  $x^{(m)}$  は独立としてよいが、 $y_t$  の観測下では条件付き独立とならない (図 1)。しかし近似的に

$$p(x | y, \theta) = \prod_{m=1}^M q_m(x^{(m)}) \quad (1)$$

となるような  $\{q_m | m = 0, 1, \dots, M-1\}$  を考えることができる。このとき代入

$$\ln q_m(x^{(m)}) := \int \ln p(x, y | \theta) \prod_{m' \neq m} q_{m'}(x^{(m')}) dx^{(m)}$$

を  $m = 0, 1, \dots, M-1$  について繰り返して行なうことにより、式 (1) の近似を良くすることができる。これを変分 E-Step という。観測ノイズが正規分布する場合、 $q_m$  は十分統計量を持つので繰り返して行なう結果を計算機上に保持することができる。

引き続き変分 M-Step という段階では、 $\{q_m | m = 0, 1, \dots, M-1\}$  を固定しておいて、

$$\int \ln p(x, y | \theta) \prod_{m=0}^{M-1} q_m(x^{(m)}) dx^{(m)}$$

を最大化する。このステップの結果は量

$$\gamma(m, k, t) = P(x_t^{(m)} = k) \\ \xi(m, k, t) = P(x_{t-1}^{(m)} = k, x_t^{(m)} = k')$$

を用いて表わすことができる。量  $\gamma$  および  $\xi$  は個別の過程  $x^{(m)}$  についての Forward-Backward アルゴリズムによって求めた。

## 4 計算例

信号源が一つしかない場合、近似を伴わず厳密な計算ができる。この様子は図 2 に表われる通り、ほぼ正しい波形を学習できており、発火地点も正確に推定することができ、一方信号源が二つあり、観測信号が二チャ-



図 2: 信号源が一つしかない場合の観測信号中のスパイク波形 (左) と学習によって得られた波形 (右)。学習において 1 [ms] 以降は値 0 となるよう拘束を置いてある。



図 3: 信号源が 2 つ、観測信号が 2 チャネルある場合のスパイク波形 (左) と学習によって得られた波形 (右)。

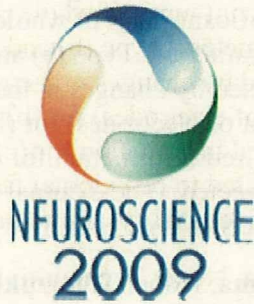
ネルある場合、図 3 のようになった。残念ながら、観測信号中にあった一種類の神経からのスパイクを丁寧に平均にしたような形のスパイク波形が 2 つ表われてしまった。

## 5 おわりに

本稿では HMM の学習問題としてのスパイク・ソーティングについて、信号源である神経の数について多項式オーダーの計算法を提案し、その結果を吟味した。結果は満足できる性能ではなかったが、これが計算の裏にどのようなのか、学習データの不備なのか、それとも変分近似自体に由来するものかははっきりしない。現在の原因を詳しく究明中である。

## 参考文献

[1] M. Akay, ed. (2007) "Handbook of Neural Engineering". IEEE Press.  
[2] F. Rieke, D. Warland, R. de Ruyter van Steveninck, and W. Bialek (1996) "Spikes: Exploring the Neural Code". The MIT Press.  
[3] M. S. Lewicki (1998) "A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials." *Network: Computation in Neural Systems* 9.  
[4] J. A. Herbst, S. Gammeter, D. Ferrero, and R. H. Hahnloser (2008) "Spike sorting with hidden markov models." *Journal of neuroscience methods* 174 1 pp. 126-134.  
[5] Z. Ghahramani, M. I. Jordan, and P. Smyth (1997) "Factorial hidden markov models." in *Machine Learning* MIT Press.

[Print this Page](#)

## Presentation Abstract

Program#/Poster#: 360.1/BB5

Title: Analyzing transition in correlation between neural signals and locomotion through vehicular BMI RatCar

Location: South Hall A

Presentation Time: Monday, Oct 19, 2009, 8:00 AM - 9:00 AM

Authors: \*O. FUKAYAMA, T. SUZUKI, K. MABUCHI;  
Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan

Abstract: An online brain-machine interface (BMI) system for a rat in the form of a small vehicle, which we call the RatCar, has been developed. It is unique in that the BMI device is integrated with an animal body, which induce remarkable functional changes in the motor regions. Although functional changes in the brain while connected to a BMI system have been hypothesized since neural control of a robotic arm was achieved by Chapin in 1999, detailed phenomena have not yet been clarified. The purpose of our research is to analyze functional stability and adaptation of neural signals with our BMI system.

Eight rats were prepared for the experiment. Each rat had neural electrodes implanted in the motor cortical regions of its brain to chronically record extracellular action potentials. The electrodes were formed with a sheet of flexible parylene polymers and gold signal wires. The rats were then mounted one by one on a vehicular device 3 to 14 days after the implant surgery. The vehicle was designed to either drive itself while sustaining the rat body or to be towed by the rat. A linear state space representation model correlated the rat neural activity and the locomotion of the vehicle. When the vehicle sustained the rat, it was driven in accordance with locomotion estimated from the rat's neural firing rates using the Kalman filter algorithm. The correlation parameters were updated when the rat freely moved around towing the vehicle. These two driving conditions were switched alternately. The updated parameters were analyzed to detect functional transitions in the neural representation of motor commands.

In the initial period of each trial with each rat, the correlation parameters converged within 30 seconds as the rat freely moved around towing the vehicle. Three types of transition were observed as each trial

proceeded: (a) a sudden significant jump of partial parameters, (b) a sudden significant jump of whole parameters, and (c) a slow variation of whole parameters. Type (b) and (c) transitions had been expected as artifacts caused by changes in the recording condition (e.g., displacement of electrodes) for (b) and instability of our model due to lack of acquired information for (c). Type (a) transitions, however, were not expected to be external factors. The results showed the ability of our interactive BMI system to describe neural transitions.

Disclosures: **O. Fukayama**, None; **T. Suzuki**, None; **K. Mabuchi**, None.

Keyword(s): MOTOR CORTEX

RAT

LOCOMOTION

Support: Grant-in-Aid for Young Scientists (Startup) from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan

Grant-in-Aid for Scientific Research (A) 17206022 from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan

Grant-in-Aid for Scientific Research on Priority Areas "Emergence of Adaptive Motor Function through Interaction between Body, Brain and Environment" from the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology of Japan

Grant-in-Aid for Research on Advanced Medical Technology H20-Nano-033 from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan

[Authors]. [Abstract Title]. Program No. XXX.XX. 2009 Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2009. Online.

2009 Copyright by the Society for Neuroscience all rights reserved. Permission to republish any abstract or part of any abstract in any form must be obtained in writing by SfN office prior to publication.

[Print this Page](#)

### Presentation Abstract

Program#/Poster#: 787.11/GG85

Title: Preliminary development of parylene flexible sensor for glutamate detection

Location: South Hall A

Presentation Time: Wednesday, Oct 21, 2009, 10:00 AM -11:00 AM

Authors: \***N. KOTAKE**, T. SUZUKI, O. FUKAYAMA, S. TAKEUCHI, K. MABUCHI;  
The Univ. of Tokyo, Tokyo, Japan

Abstract: Glutamate (Glu) is the major excitatory neurotransmitter in the central nervous system. Recent studies have revealed that Glu is involved in most aspects of normal and abnormal brain function. Over the last decades, real-time Glu monitoring has been achieved using enzyme-based sensors, but most of them were based on rigid materials like silicon or ceramic. Since rigid materials do not deform in the brain, the sensor causes a slight shift of measuring position and some damage in the soft neural tissue. We propose a flexible Glu sensor that can fit into the brain. The sensor was fabricated by surface micromachining. A gold layer (thickness: approximately 300 nm) was sandwiched between two 10- $\mu$ m-thick layers of parylene. This gold layer works both as conductors and measuring sites, and the parylene layers insulate the gold layer except at the measuring sites. We designed four-channel measuring sites on the probe. The measuring sites were platinized and coated with a mediator layer containing horseradish peroxidase and/or a Glu oxidase layer using micropipettes. After modification with the enzyme, the flexibility of the sensor was maintained. The sensor was connected to a potentiostat, and Glu activity was measured by amperometry. We are currently evaluating sensitivity, detection limits, and selectivity of the sensor in vitro. We also are preparing for implantation into a rat brain to evaluate the sensor in vivo.

Disclosures: **N. Kotake**, None; **T. Suzuki**, None; **O. Fukayama**, None; **S. Takeuchi**, None; **K. Mabuchi**, None.

Keyword(s): Flexible sensor  
Neurotransmitter  
Glutamate

Support: Health and Labour Sciences Research Grant (H20-Nano-general-003)  
from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan.

Strategic Research Program for Brain Sciences from the Ministry of  
Education, Culture, Sports, Science and Technology

KAKENHI(20246045)

KAKENHI(20033005)

[Authors]. [Abstract Title]. Program No. XXX.XX. 2009 Neuroscience  
Meeting Planner. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2009. Online.

2009 Copyright by the Society for Neuroscience all rights reserved.  
Permission to republish any abstract or part of any abstract in any form  
must be obtained in writing by SfN office prior to publication.

# Quick and Easy Fabrication of Flexible Microfluidic-Electrode without the use of photolithography

Riho Gojo<sup>1</sup>, Takafumi Suzuki<sup>2</sup>, Kunihiko Mabuchi<sup>2</sup> and Shoji Takeuchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institute of Industrial Science, The University of Tokyo, JAPAN

<sup>2</sup>Dept. of Information Physics & Computing, Grad. School of Info. Sci. & Tech., The University of Tokyo, JAPAN

## ABSTRACT

In this abstract we describe an inexpensive technique for rapidly fabricating microelectrodes-microfluidic devices for injection into biological tissue. The total processing time of our devices, including design and fabrication, is less than 90 min (Fig.1). Since our method does not require photolithography it can be used by medical doctors and biologist without access to microfabrication facilities. We use a cutting-plotter machine to cut commercially available self-adhesive transparencies, which we assemble to make the probe.

**KEYWORDS:** Quick and Easy Fabrication, Flexible Microelectrode, Flexible Microfluidic-Electrode

## INTRODUCTION

Injection devices that are easy-to-assemble and minimally invasive have the potential to impact a number of medical procedures. For example, dopamine replacement therapy is used in the early stages of Parkinson's disease but is less effective over the long term [1]. Electrical deep-brain stimulation is a valuable

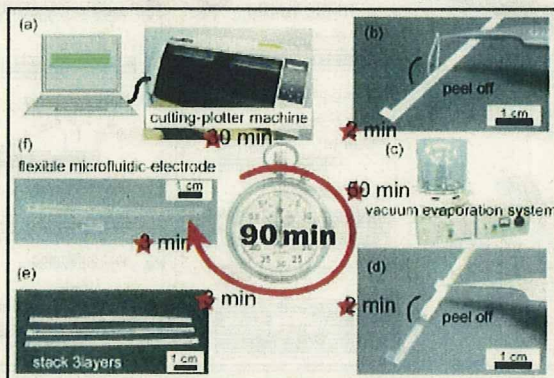


Figure 1. Fabrication process. (a) Design and cut transparency sheet into the electrode. (b) Peel patterned mask sheet. (c) Gold deposition. (d) Peel off mask sheet. (e) The three layers of the microfluidic device. (f) Stack the layers.

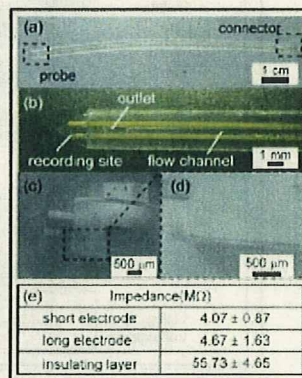


Figure 2. Electric properties of the probe. (a-b) Image of the fabricated probe. (c-d) SEM image of the probe. (e) Impedance data of the electrodes.

complement to dopamine treatments, however this procedure is highly invasive. We have previously reported a procedure using photolithography to fabricate flexible neural probes combined with a fluidic channel [2]. Although photolithography has enabled rapid prototyping and fabrication of numerous micro-scale structures, the hardware required is expensive and can be difficult to use for non-experts [3-6]. These difficulties have limited microfluidic technology from reaching many biologists and medical doctors. Here, we describe a method to quickly and easily fabricate flexible microfluidic-electrodes without the use of photolithography.

### EXPERIMENTAL

Our flexible probe is composed of a self-adhesive transparency film with two electrodes and a microfluidic channel for injection (Fig.3). We fabricate the electrodes using a commercially available cutting-plotter machine to cut channels into a self-adhesive transparency film; we stack the layers to form the microfluidic channel [Fig.3(a-d)]. We then cut a new sheet to use as a mask pattern for gold deposition [Fig.3(a,e-g)]. After the deposition, we peel-off the mask to reveal the desired gold pattern [Fig.3(h)]. Finally, we stack the channel and the electrode [Fig.3(i)]. The cutting-plotter machine has a linear resolution of approximately  $100\ \mu\text{m}$  [Fig.2(b-c)], which is lower than photolithography but is sufficient for simple chemical and biological experiments. The completed probe is shown in Fig.1(f). The electrode is thin ( $250\ \mu\text{m}$ ) but robust enough to withstand normal operation.

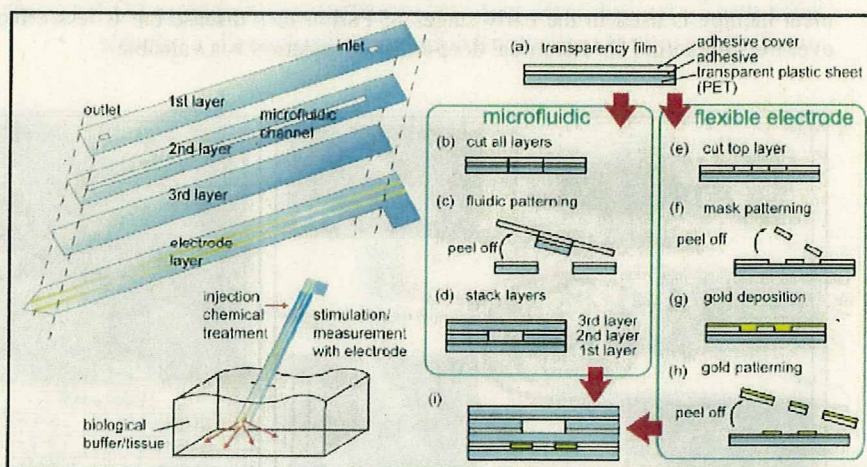


Figure 3. Schematic diagram of the device in biological tissue and fabrication process. (a) Self-adhesive transparency sheet. (b) Cut microfluidic channels into the film. (c) Peel off the film cover and channel layer. (d) Stack the three layers. (e) Cut the cover film sheet to form a mask for the gold pattern. (f) Peel off the cover film. (g) Deposit gold. (h) Peel off the mask. (i) Merge microfluidic channel and flexible electrode by sticking them together.



## RESULTS AND DISCUSSION

We imaged our probe using a scanning electron microscope (SEM) to evaluate the quality of the probe's features [Fig.2(c-d)]. The impedances of the probes we fabricated are approximately 4 M $\Omega$ . We did not observe any significant difference in the impedances compared to the conventional microelectrode (2 M $\Omega$ )[7]. We also verified that there is no electric leakage from the electrodes when submerged in saline.

We demonstrate the utility of our device by injecting red ink through it. We submerged the device in a saline bath and subsequently injected ink through the channel using a syringe (Fig.4). Under these conditions, we observed red ink emerging from the orifice of the microfluidic channel with no leakages.

## CONCLUSIONS

In summary, we describe an important advance over current neural electrodes, in terms of cost and ease of fabrication. We believe that this technique can be used by doctors and researchers who are not familiar with microfabrication processes and in the classroom.

## ACKNOWLEDGEMENTS

The work was partly supported by Health Labour Sciences Research Grant H20-nano-general-003 from the Ministry of Health, Labour and Welfare of Japan and Japan Association for the Advancement of Medical Equipment (JAAME).

## REFERENCES

- [1] R. Fuentes, *et al.*, Science, vol. 323, pp. 1578-1582, (2009).
- [2] M. Juchniewicz *et al.*, MicroTAS2007, pp. 1711-1713, (2007).
- [3] S. Takeuchi *et al.*, Journal of Micromechanics and Microengineering, vol. 14, pp. 104-108, (2004).
- [4] R. Gojo *et al.*, MicroTAS2008, pp. 1000-1002, (2008).
- [5] S. H. Chao *et al.*, MicroTAS2006, pp. 672-674, (2006).
- [6] A. Grimes *et al.*, Lab on a Chip, pp. 170-172, (2008).
- [7] R. Gojo *et al.*, MEMS2009, pp. 256-259, (2009).

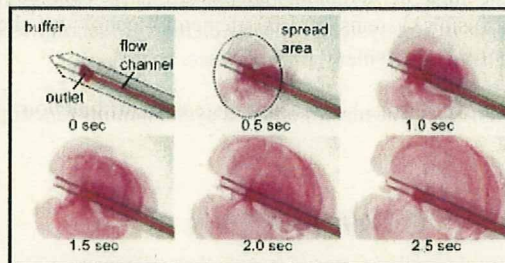


Figure 4. Photographs of the injection experiment. Red ink is introduced into the flow channel and is injected into biological buffer. This experiment was done using an inverted microscope.

# Study on brain adaptation using rat-machine fusion systems and multi functional neural electrodes

Takafumi Suzuki<sup>1</sup>, Naoki Kotake<sup>2</sup>, Takuya Kohama<sup>1</sup>,  
Osamu Fukayama<sup>1</sup>, Kunihiro Mabuchi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Information Physics and Computing, Graduate School of Information Science and Technology,  
The University of Tokyo, Tokyo, Japan

(Tel : +81-3-5841-6880; E-mail: t.suzuki@ipc.i.u-tokyo.ac.jp, Takuya\_Kohama@ipc.i.u-tokyo.ac.jp,  
Osamu\_Fukayama@ipc.i.u-tokyo.ac.jp, Kunihiro\_Mabuchi@ipc.i.u-tokyo.ac.jp)

<sup>2</sup>Department of Advanced Interdisciplinary Studies, School of Engineering,  
The University of Tokyo, Tokyo, Japan

(Tel : +81-3-5841-6883; E-mail: Naoki\_Kotake@ipc.i.u-tokyo.ac.jp)

**Abstract:** The goal of our research project is to elucidate the brain adaptation function using rat-machine fusion systems and multi functional neural electrodes. To achieve this goal, we have developed fundamental techniques. These techniques include A) automatic adaptation of vehicle controller to time-varying neural signals recorded in these rat-machine fusion systems, and B) elemental techniques about flexible neural probes with micro fluidic channels for injection (or measurement) of medicines.

**Keywords:** BMI, rat-machine fusion system, multi functional neural electrode

## 1. INTRODUCTION

The goal of our research project is to elucidate the ability of the brain (especially the motor cortex) to adapt to variable body environments by using a rat-machine fusion system in which the body's environmental conditions are changeable (or controllable) and also by using multi functional neural electrodes. We plan to construct a "rat car" vehicle system in which the car is controlled by neural signals in the motor cortices of rats. The system may allow us to change the relationship between the motor command signals and the effectors (the muscles or the vehicle) arbitrarily. By using multi-channel recordings of neural signals together with injection and recording of certain medicines into the brain, we plan to elucidate the brain property mentioned above.

We have been engaged in developing fundamental techniques to achieve this goal. The techniques includes A) automatic adaptation of vehicle controller to time-varying neural signals recorded in these rat-machine fusion systems, and B) elemental techniques for long-term stable neural recording using devices such as flexible neural probes with micro fluidic channels for injection (or measurement) of medicines or with a sensor for glutamate detection.

## 2. RATCAR SYSTEM [1, 4-5]

### 2.1 Introduction

We have developed a rat-machine fusion system in the form of a small vehicle BMI system, which we call the 'RatCar'.

Although a simple linear model that we proposed in our former report[1] estimated an abstract locomotion

velocity of a rat according to its neural firing rates, the results with too rough fluctuations were not suitable to control the RatCar vehicle. The model was divided into two sections; a section to correlate rat's locomotion velocity with each neural firing and another to estimate locomotion velocity compiling the whole pattern of neural firings. It enabled stable control of the vehicle even though the model precision had been inadequate. In addition, changing states both in the brain and the machine were observed through the model parameters.

### 2.2 Methods

First, tungsten wire electrodes (40  $\mu\text{m}$  in diameter) coated with parylene-c polymer (5  $\mu\text{m}$  thick) were implanted in the motor cortex and basal ganglia regions which were determined according to a stereotaxic atlas of the rat brain (Table 1)[3].

As the rat ran inside the wheel-formed device, those electrodes transmitted neural spikes to the outside of the body followed by amplifier (5,000 times) and band-pass filter (300 Hz - 5 kHz).

Table 1 Electrodes coordinate (to *bregma*)

region	anterior [mm]	lateral [mm]	ventral [mm]
M1	-0.7	2.5	1.6
STR	0.5	3.0	4.0
GP	-0.7	3.4	6.0
STN	-3.5	2.6	7.3

(Negative values in anterior represents posterior distance.)

Those spikes were then sampled (25 kHz) and sorted to calculate firing rates  $s(t) = (s_1(t) \dots s_n(t))$  in every 100 ms bin for each neuron. Finally, the principal component analysis normalized and whitened variances

of those firing rates.

$$y(t) = RL^{-1}(s(t) - \mu) \quad (1)$$

$$\mu = E\{s(t)\} \quad (2)$$

$$E\{(s(t) - \mu)(s(t) - \mu)^T\} = RLL^T \quad (3)$$

( $L$  : diagonal)

Meanwhile, the actual locomotion velocity  $v(t)$  recorded as a rotating speed of the wheel was applied to identify or evaluate the model.

Our model to estimate locomotion velocity of a rat has a state space representation described as,

$$x(t+1) = Fx(t) + G\xi(t) \quad (4)$$

$$y(t) - \sum_{i=1}^p a_{n,i}y(t-i) = Hx(t) + \eta(t) \quad (5)$$

where

$$x(t) \equiv \begin{pmatrix} v(t) \\ (v(t) - v(t-1))/\Delta t \\ (v(t) - 2v(t-1) + v(t-2))/\Delta t^2 \end{pmatrix}$$

$$F \equiv \begin{pmatrix} 1 & \Delta t & 0 \\ 0 & 1 & \Delta t \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix}$$

$$G \equiv I$$

$$\Delta t = 100\text{ms (bin size)}$$

$$\xi : \text{model transition error (initially 0)}$$

$$\eta : \text{model output error (initially 0)}$$

In the algorithm, the equation (4) describes an update of internal states consist of the rat's locomotion velocity and its periodic differences. Meanwhile, the equation (5) correlates a combination of neural firings to the locomotion velocity with an output matrix  $H$ . Note that the neural firings were given as residuals of an auto-regression process (defined by parameters  $a_{n,i}$ ) applied to neural firing rates.

To solve the model (i.e., to acquire  $v(t)$ ,  $H$ ,  $a_{n,i}$ ), two sections were applied as follows. First,  $H = (h_1, \dots, h_n)$  and  $a_{n,i}$  were identified by another state space representation for each neuron as actual locomotion velocity array  $x(t)$  was given:

$$u_n(t+1) = u_n(t) \quad (6)$$

$$y_n(t) = (h_n \ a_{n,1} \ \dots \ a_{n,p})u(t) \quad (7)$$

where

$$u_n(t) \equiv (x(t) \ y_n(t-1) \ \dots \ y_n(t-p))^T$$

The measurement update algorithm from Kalman filter[2] were applied to identify  $u_n(t)$  and therefore  $a_{n,i}$  and  $h_n$ .

Kalman filter algorithms (the time update and the measurement update) were then applied to the former state space model (4,5) to estimate locomotion velocity  $v(t)$ . Note that the algorithms were able to continue the estimation of the locomotion velocity  $v(t)$  as the

parameters  $a_{n,i}$  and  $H$  were updated.

Six male Wistar rats were used as subjects. They were trained to walk inside the wheel-formed device described above after two days after the implant surgery. Although they had electrodes implanted both in motor cortex and basal ganglia, we focused only on the motor cortex in this experiment. The recording trials were divided into approximately 1 minute periods to prevent a rat from getting tangled in recording cables. While the first trial was used to identify the model and to observe varying parameters, the rest trials (typically 2; 120 s) evaluated a precision of the model.

### 2.3 Results

The result of an open estimation shows that rats D, E and F gave a high correlation over 0.2, although these trials contained other movements unrelated to locomotion.

More detailed estimation for rat E, which had a highest correlation, showed that while estimated value by our presented algorithm well followed start, stop and drastic changes of actual locomotion, it tended to be 3 - 4 times larger in amplitude. As a whole for rat C, however, the estimated velocity often failed to follow the actual one which resulted in the low correlation.

### 2.4 Discussion and Conclusion

The results showed that the first 10 - 15 seconds period of the identification trial converged the initial covariance components to achieve a basic estimation of locomotion velocity. As long as these values stayed constant, the model well estimated locomotion velocity especially for drastic changes. On the other hand, some of them gradually changed after the initial identification period had passed in the case of rat C, some, which resulted in a weaker correlation with velocity.

These changes were caused either by plasticity of the brain, modification in recording condition, or dynamics in brain activity that our model did not take into account. It is not able to clearly distinguish them with our methods by themselves since our current results show phenomenological correlations between each neural firing and the locomotion velocity. Our results, however, still suggest that those changes were caused by some sort of state transition in the brain.

For future studies, continuous recording for long hours with a rat mounted on the vehicle will suggest quantitative results on dynamical changes and plasticity of the brain as connected to BMI system.

## 3. MULTI-FUNCTIONAL NEURAL ELECTRODE

### 3.1 Introduction

We propose a flexible probe to record both neuro-electrical and neuro-chemical activities as an example of the multi-functional neural electrodes[6]. The fabrication process is based on the method we have reported previously[7]

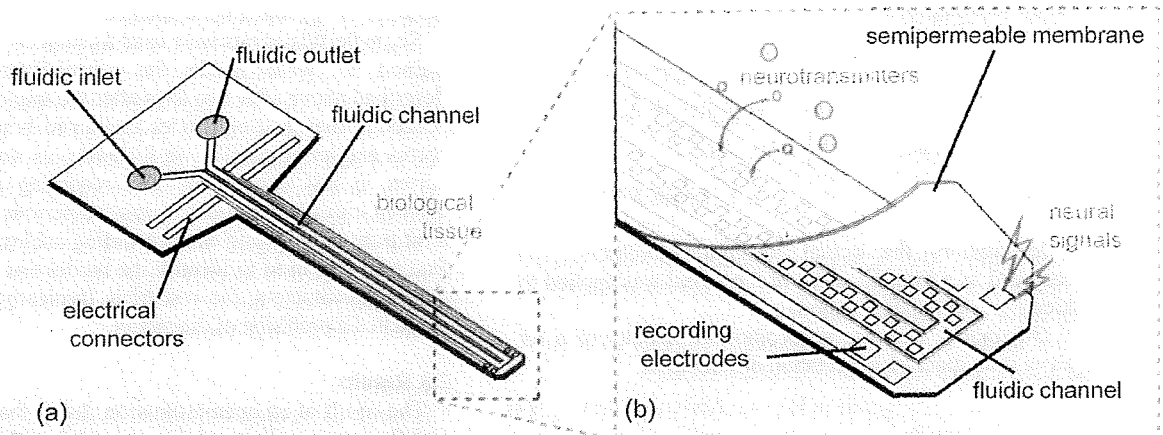


Fig. 1. Conceptual illustration of a probe. (a) Overview image of the probe. The probe is inserted into biological tissue. (b) Tip of the probe with recording electrodes and a fluidic channel. The fluidic channel is covered with a semipermeable membrane. When the probe is inserted into the brain, the microelectrodes record neural signals, and the fluidic channel collects neurotransmitter from the extracellular fluids around the point of interest.[6]

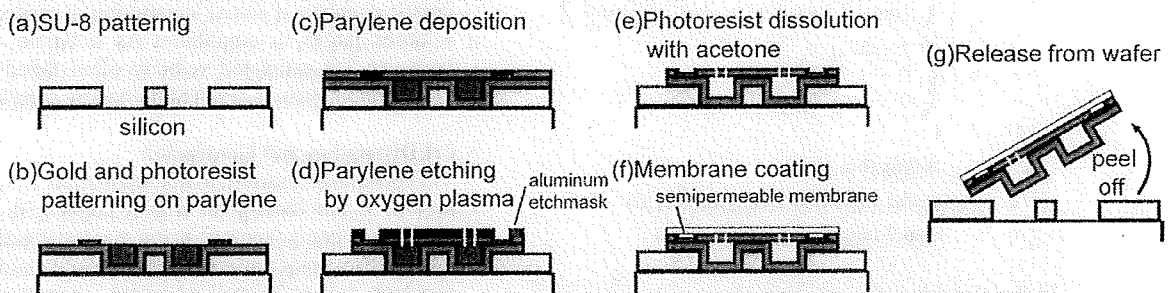


Fig. 2 Fabrication process of the probe[6]

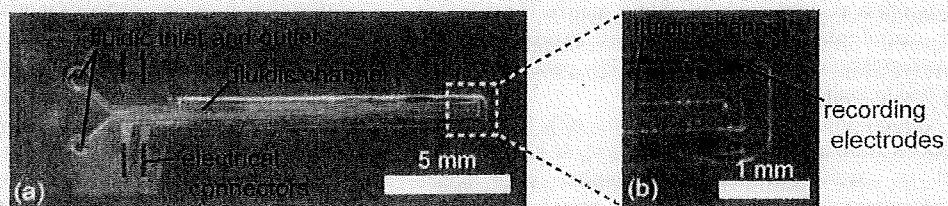


Fig. 3 The probe was fabricated on a 25- $\mu$ m-thick parylene C substrate. (b) The fluidic channel is U-shaped at the tip of the probe. [6]

### 3.2 Methods

Figure 2 shows the fabrication process of the probe. First, an SU-8 mold (50  $\mu$ m thick) was made on a silicon wafer. Then, a 30-40  $\mu$ m thick photoresist layer and a patterned gold layer were sandwiched between two Parylene thin films (the first layer is 15  $\mu$ m in thickness; the covering layer is 10  $\mu$ m in thickness) on the mold. The photoresist was used as a sacrificial layer to form the fluidic channel. After oxygen plasma etching with aluminum as an etchmask, which defined the shape of the probe and the opening sections of the fluidic channel, the fluidic channel was opened by dissolution of the photoresist in an acetone bath. A semipermeable membrane was prepared by spincoating

an acetone solution containing cellulose acetate and formamide. The membrane was then transferred onto another wafer with neural probe, and was fixed to the probe by drying acetone. Finally, the structure was peeled off from the SU-8 mold.

### 3.3 Results and Discussion

The whole structure of the probe is shown in Figure 3a. The size of the probe is 1.2 mm in width, and 12 mm in length (excluding the connecting site). The probe has a fluidic channel and four recording electrodes around the tip of the probe (Figure 3b). The size of the fluidic channel was 170  $\mu$ m in width, and 30-40  $\mu$ m in height. As a result of an *in vitro* perfusion test, no