

leakage was observed from the fluidic channel. The measured impedance of the gold electrodes ($100 \times 150 \mu\text{m}^2$) was approximately $600\text{k}\Omega$ at a frequency of 1 kHz.

REFERENCES

- [1] O. Fukayama, N. Taniguchi, T. Suzuki, K. Mabuchi, Control of a vehicle-formed BMI system for rats by neural signals recorded in the motor cortex, Proc. 3rd International IEEE EMBS Conf. on Neural Eng., 2007, pp. 394 - 397.
- [2] R. E. Kalman and R. S. Bucy, New Results in Linear Filtering and Prediction Theory, Trans. ASME, J. Basic Eng., Vol. 83D, No. 1, 1961, pp. 95 - 108.
- [3] G. Paxinos and C. Watson, The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, Compact Third Edition, 1997, Academic Press.
- [4] O. Fukayama, N. Taniguchi, T. Suzuki, K. Mabuchi: Automatic Adaptation of Vehicle Controller to Time-Varying Neural Signals Recorded in RatCar System; A Vehicle-formed BMI, Proc. of Joint 4th International Conference on Soft Computing and Intelligent Systems and 9th International Symposium on Advanced Intelligent Systems, 253-256 (2008)
- [5] O. Fukayama, N. Taniguchi, T. Suzuki, K. Mabuchi: RatCar system for estimating locomotion states using neural signals with parameter monitoring: Vehicle-formed brain-machine interfaces for rat, Proc. of 30th Annual International Conference of the IEEE EMBS, 5322-5325 (2008)
- [6] N. Kotake, T. Suzuki, K. Mabuchi, S. Takeuchi: A flexible parylene neural probe combined with a microdialysis membrane, Proc. of microTAS 2008, 1687-1689 (2008).
- [7] S. Takeuchi, D. Ziegler, Y. Yoshida, K. Mabuchi, T. Suzuki, Parylene flexible neural probe with micro fluidic channel, Lab on a chip, 5, pp. 519-523 (2005).

実践講座 脳機能計測の基礎とその応用 第5回 微小電極法の基礎とその応用

東京大学大学院 情報理工学系研究科 鈴木 隆文

1. はじめに

本稿では、微小電極法の基礎とその応用について解説する。Human Interface研究者などの関連分野の研究者が、微小電極法を実際に始めることになった場合の最初のガイドブックのようなものになれば幸いである。電極の選定に加え、計測器、信号処理等についても解説したい。頁数の制約があるため詳細にまで立ち入ることは難しいが、多くの文献を紹介することでカバーできればと考えている。また、この趣旨のため、オリジナルの原著論文ではなく、あえて参考書や解説論文を紹介している箇所もあるが、ご容赦願いたい。微小電極法の原理から実際の手技、応用について、詳細に至るまでまとめられている書籍というものは、著者の知る限りは無いように思われる。国内外の多くのグループにおいて、グループ内での技術の伝承が行なわれており、他分野の研究グループが実験を開始する場合には、情報を集めるだけでも苦労があるように思われる。このため書籍案内のようなものであっても、一定の価値があるのではと考えている。

微小電極法は非常に長い歴史を持つ技術であり、その原理的な部分はほとんど変化がないが、近年、脳科学におけるマルチニューロン活動の解析への注目や、あるいはBrain-Machine Interface (BMI) 技術への期待が高まるとともに、再度、その手法自体についての改良やブレイクスルーを目指した研究も国内外の多数のグループで行われるようになってきている。このあたりの状況についても記したい。

本稿ではまず微小電極法の原理を示し、細胞外計測と細胞内計測の違い等について解説する。次に実際の計測場面として、麻酔下のラットの大脳皮質の神経活動を金属微小電極で計測する急性実験(分野や研究者により定義に幅があるが、この場合は麻酔をかけて行う数時間以内の実験を指している。これに対して電極を脳などに埋め込んだ上で、覚醒状態(自由行動状態あるいは半拘束状態)で数日から数か月にわたって行う計測実験等を慢性実験と呼ぶ)を想定して、必要な装置等も含めて解説する。次いで、目的による電極の選択と信号処理手法等について解説を行い、最後に、電極とその周辺技術に関する課題や研究について解説する。手技、原理等の解説書としては[1]~[10]が挙げられる。

2. 原理

神経活動電位の発生原理、計測の原理の詳細については、[1][6][10]~[12]に詳しい。本稿では非常に簡潔に述べる。

神経細胞の細胞体あるいは軸索等の細胞膜の内外の電位差は通常は(静止時)ナトリウムイオン、カリウムイオン等の濃度に違いによって -60mV 程度に保たれているが、

興奮電動に伴い、その値は $+30\sim 50\text{mV}$ 程度まで一時的に上昇して、再度静止時の電位に戻る。この間数msec程度の現象である。細胞内に微小なガラス管等を刺入して、この膜電位の変化を直接計測する方法が細胞内計測法である。刺入ではなく、膜にガラス管を当てた状態で、膜の一部を吸引して、膜電位を計測する手法をパッチクランプ法という(パッチクランプ法には、複数種類のバリエーションがある。[13]に詳しい。)これらに対して、膜の外側の近傍(理想的には約 $100\mu\text{m}$ 以内の距離)に電極を配置して計測する手法を細胞外計測法と呼ぶ(図1)。この手法でも活動電位をスパイク状の電位変化として計測することが可能である。膜の特性なども含め、膜電位や活動電位の波形自体に興味がある場合には細胞内計測法が使用されるが、この手法では長期間にわたっての計測が困難であるため、そのような実験においては細胞外計測法が利用される。また、BMIシステムに用いる場合には、理想的には数十年間にわたって安全にかつ安定して計測できることが望ましいが、現状の細胞外計測用の神経電極でこれを達成するのは非常に困難であるため、さらなる改良を目指して研究が進められている。これについては後述する。以下では主に細胞外計測法について述べる。

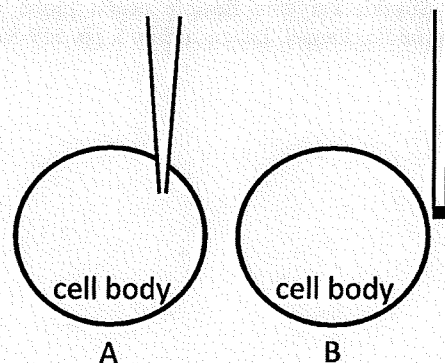


図1 細胞内計測 (A) と細胞外計測 (B)

3. 実際の計測

本節では細胞外計測法の実際について、主にラットでの急性計測実験や慢性計測実験のための電極の埋め込み実験を想定して説明する。動物の取扱いについては[14]~[17]に詳しい。電極としては市販されているタングステン針電極(エポキシコート、 $\phi 120\mu\text{m}$ 、例えばFHC社^[18]等)を仮に使用することとするが、この電極選定については、次節にて詳述する。動物種や麻酔方法の選定も非常に重要な

事項^{11,16)}であるが本稿では省略する。同じラットに関しても、実験内容によっては、Sprague-Dawley (SD)、Wistarなどの系統の選択肢がある。これらについては[1]などが参考になる。また、実験に先立って、各施設(大学、研究機関等)の動物実験倫理委員会等の承認を受ける必要がある。また、使用する麻酔方法によっては、麻薬指定(ケタミン)や向精神薬の指定(ペントバルビタール)がなされているため、しかるべき届出を行い、許可を得る必要がある。

実験課題によっては、動物に課題学習を十分にさせてから、神経信号計測実験に臨む。

いよいよ実験開始である。保定(観察や処置(この場合は注射)などの目的のために、動物が動かないよう拘束・固定すること)したラットに麻酔をかける。ペントバルビタールであれば腹腔内注射で、ケタミンであれば筋注で行う。そして、頭部の体毛を小型のバリカン等で剃り、イヤーパーをとりつけて、ラット用の脳定位装置(例えば成茂科学器械研究所¹⁹⁾)に両耳と前歯の3点でしっかりと固定する。イソジン(明治製菓)やマスキ水(日興製菓)などの消毒薬を使用して、頭部の切開予定部周辺の皮膚を、必要に応じて消毒する。メスなどによって皮膚を切開して、頭蓋骨を露出する。必要に応じて小型の開創器等を利用する。しばらく待つと、頭蓋表面に「工」の字型の線(頭蓋骨の縫合)が見えてくる。縫合の交点はBregma(ブレグマ)、Lambda(ラムダ)と呼ばれ(図2A)、ラット脳のアトラス([20]など)の基準点となっており、この2点が水平になるように、脳定位装置に固定する。頭蓋骨の適切な位置に、電動ドリル等を用いて穴を開ける。平面型の電極を用いる際や、あるいは広い領域を探索する場合には、例えば8ミリ四方などの大きな穴をあける場合もあるが、このときには、穴の周囲をドリルで削っていくようにする。頭蓋内部にある硬膜を破らないように注意すべきであるが、ラットの場合、頭蓋内壁と硬膜との距離がほとんど無いため、ドリルでの穴あけは慎重を要する。

手技に熟達するまでは、ここまでだけでも意外に大変な作業であり、実験結果の安定と効率の向上のためには、練習が不可欠である。

脳定位装置の上部に、電極を保持して微細に位置調節をすることの可能なマイクロマニピュレータを設置し、先端部にて慎重に電極を保持する。

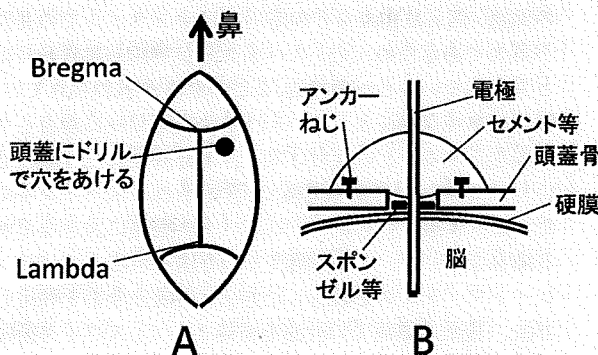


図2 A: 頭部の皮膚を切開した状態. B: 電極固定後の断面図

計測系としては、生体アンプと呼ばれる入力インピーダンスの高い(多くは差動計測型の)増幅器を用いる。一例として日本光電社の製品²¹⁾がある。ノイズ低減のため、プリアンプと呼ばれる小型のアンプを1段目の増幅器として動物の近傍に置き、そのあとで2段目の増幅を少々大型のアンプ本体で行うタイプの製品が多い。特に慢性計測実験として行動中のラットの神経信号を計測する際にはプリアンプがほぼ必須である。

差動計測型のアンプの場合には、脳へと刺入する電極を(+)端子に接続し、脳表あるいは脳内部へと設置した別の、露出面積の大きい電極を(-)端子へ(参照電極)、そして接地端子は、ラットの体のどこか、あるいは脳定位装置自体に確実に接続する。

マニピュレータで保持している針電極の先端をBregmaに合わせ(先端を損傷しないよう注意)、マニピュレータのx、y座標の基準とする。z座標については、硬膜貫通直後の脳表面を基準とする。多くの施設ではアンプの出力をスピーカに接続して、音でモニターしながら刺入を進めて行く。(熟練者は音を聴くだけで電極先端が皮質の何層あたりにあるのかなどがわかるようになる)とされる。)例えば感覚刺激に対する応答であれば、麻酔下でもスパイクを計測することができるため、例えばスパイクの振幅が最大になるような位置へと調節を行う。運動野などにおいては、刺入した電極によって電気刺激を行い、筋の活動を観察することで、位置の調節の手がかりにすることもある。

電極を適切な位置で固定した上で、急性計測実験の場合には、信号計測を行い、また次の細胞を探索する、ということを繰り返す。慢性計測実験のための電極埋め込みである場合には、適切な位置でそのまま固定するために、歯科用のセメントあるいはレジン(ジーシー社²²⁾などで頭蓋の穴を覆い、電極もそれによって固定する。セメントで覆う前に、スポンゼル(アステラス製薬)などのスポンジ状のゼラチンなどの材料やワセリン等を硬膜表面に置くなど、各種の方法が提案されている。上述の方法では、電極はこの位置で固定されてしまい、後で微調節をすることが不可能であるが、自作の(あるいは市販の)マイクロドライブ(Neuralynx社²³⁾)などよばれる電極位置調節装置をラットの頭蓋上に固定することで、1~数十チャンネルの電極を個々に(ネジなどによって、z方向の)位置調節することを可能とする方法が提案されている。こうした手法については[3]などに詳しい。サルなどのより大型の動物においては、頭蓋上にチャンバーをとりつけておいて、チャンバー内部で硬膜表面が露出(実際には適切な処置をしないと数日で結合組織に覆われてしまう)した状態を維持し、急性計測実験を効率的に繰り返し行うことを可能としている。このチャンバーには(ラットの場合に脳定位装置に設置したような)マニピュレータをとりつける。以上が、微小電極法の実際である。

4. 電極の選定と準備

口)に細胞外計測用の電極といっても、様々な材料、形

状のものが、実験目的に合わせて用いられている。

電気生理の分野で手技的に確立しているものとしては、ガラス電極、金属電極の2つがある。ガラス電極とは、微細ガラス管をプラマーで熱して引いて（多くの場合）自作するもので、作成のこつなどが[1]に詳しい。管の内部に金属線を入れ、管内を電解液で満たして計測を行う。（金属線は先端部までは達しない）金属電極とは、金属ワイヤをガラス、あるいはエポキシ、最近ではバリレンなどの材料で絶縁被膜を作成して、先端だけを露出させるものであり、自作もされるが、様々な種類の電極あるいは電極材料として絶縁被膜されたワイヤ等が市販もされている。露出の面積は、計測の特性に大きく影響するため、電極インピーダンスを指標として調整される。電極インピーダンスは、（神経スパイクの中心的な周波数帯に近い）1kHzの交流インピーダンスだけで表わされることがある。電極金属は、金属自体の硬さ、分極電位の安定性（あるいは電位の値自体）、生体適合性などによって選定される^[14]。また、実験後に位置をマークするために、エルジロイ電極に含まれる鉄を、組織に沈着させるなどの方法が採られることもある^[14]。また電流による熱で先端周囲の組織を変性させてマークすることもできる。できるだけ細い直径で、かつ硬膜を貫通させたい、ということが条件であれば、例えば直径30 μ mのタングステンやステンレスのワイヤ（の先端を電解研磨法などによってとがらせたもの）が選定される。電極を中心とした半径約140 μ m程度の球内にある神経細胞であれば、スパイクの計測が可能であるとされている^[24]。

以上はシングルチャネルでの計測を前提としているが、このような電極を、ある程度（例えば300 μ m）の間隔で配置して束状にすると、剣山型の電極を構成することができる。これはシングルチャネルでの計測を複数点で行うことに相当し、脳のより広い範囲での活動を計測したい場合に用いられる。これに対して、あえて非常に狭い間隔で複数の電極を配置して用いることがある。2チャンネルだとステレオトロード、4チャンネルだとテトロードと呼ばれるこうした電極においては、ある神経細胞のスパイクを、複数の電極で（ほぼ）同時に計測することになり、後述するスパイク弁別をより高い精度で行うことが可能となるため、例えば局所での神経細胞ネットワークのふるまいを詳細に解析したい場合には強力な方法となる。またこの複数の電極の配置自体が弁別精度に与える影響も研究されている。電極は、絶縁被膜された細い金属ワイヤを2～12本より合わせて作成される。

近年では、シリコンを中心とした微細加工技術の発展にともなって、シリコンを基板材料とした様々な電極が提案され、一部は市販もされるようになってきた。有名な例ではミシガン大学のWiseらのグループが開発したプローブ電極^[25]と、ユタ大学のNormannらのグループが開発した剣山型電極^[26]がある。前者は平面型の電極であるが、1本のプローブに複数の電極が配置された形状や、そのプローブを並べてフォーク型とした電極などが、Neuronexus Technologies社^[27]から販売されている。さらに、電極の基部に増幅回路やスイッチ回路を配置したものや、フォーク型の

電極を積層して、剣山型の電極としたものも報告されている。（これらは市販はされていない。）プローブの厚さにも様々なタイプがあるが、例えば15 μ m厚のものは、シリコンという材料から想像される以上に柔軟である。（予想以上にしなるが、ある程度以上しなせるとやはり折れてしまう。）

ユタ大学の剣山電極は、1.5mmあるいは1.0mm厚のシリコンウエハに、格子状にダイシングの刃を入れてからエッチングすることで、アスペクト比の高い剣山構造を実現している。約4mm四方の基板上に10 \times 10の100本の電極が間隔約400 μ mで並んでいる。個々の電極針は、基部では約100 μ mの直径を有するが、先端に向けて徐々に細くなり、先端部のみが計測点となっている。構造から推察される通り、100本の電極を個々に位置調節することができないだけでなく、組織との摩擦のため、ゆっくりと（例えば計測しながら）刺入することはできず、専用のインサータで、高速に打ち込むように刺入される。この電極についてはBlackrock社^[28]から販売されている。

5. 計測系と信号処理手法

計測された神経信号は、典型的な例では、ノイズ低減、スパイク検出、スパイク弁別という処理を経て、個々の神経細胞からの発火のタイミングが得られることとなる。（近年ではノイズ低減までを、バンドパスフィルタ等によるアナログ処理で行い、そのあとでAD変換ボード等を介してPCにデータとして取り込み、以降の処理はデジタル信号処理としてなされることが多い。）さらにその後では、個々の神経細胞の瞬時発火頻度を計算したり、あるいは発火タイミング自体あるいはスパイク間隔（ISI）の推移を、他の神経細胞の活動やタスクと相関をとるなどして解析が行われている。こうした信号処理については[29]～[31]に詳しい。

これらの信号処理の中で、特にスパイク弁別に関しては、現在でも盛んに研究が進められている。電極で計測されるスパイク波形は、神経細胞ごとに基本的には同じ形状であるということが前提となっているが、(1) 例えばスパイクが連続して発生するバースト中では、スパイクの振幅が徐々に小さくなっていくなど、「同じ形状」の前提が崩れる場合への対処、(2) 複数の細胞のスパイクが時間的に重なってしまう場合への対処、(3) 複数の細胞のスパイクがほぼ同じ形状になってしまう場合への対処、(4) 計算量の問題（例えばBMIなどの応用ではオンラインでの弁別が不可欠であるため）、(5) スパイク源が空間的に厳密には点と見なせないことへの対処、などの解決が求められている。例えば単純な手法として、スパイク振幅だけに着目して閾値処理をする、というだけでも、十分に役に立つ場面も無いわけではない（1個の電極で、計測されるスパイクがただか2～3種類で、かつそのスパイク振幅に大きな差がある場合など）が、より高精度での弁別を目指して、テンプレートマッチングを利用した方法、主成分分析を利用した方法、（複数の電極での計測を前提として）スパイク振幅などを特徴量とする手法、などが提案されている。中でも有望な手法として、独立成分分析（ICA）を利用したものがあ

り、上述の(1)～(4)についてはほぼ解決されているが³⁷²⁾、弁別すべき神経細胞の数以上のチャンネル数で計測する必要があるという点が、チャンネル数の有効利用という観点からは問題とも考えられる。また、さらに(5)の解決によって推定精度をさらに向上させる取り組みとして、複素独立成分分析を用いた手法も提案されている³⁷³⁾。

近年では、アンプシステムに加えて、上述の一連の信号処理までを行えるような信号処理ソフトウェアまでも統合したシステムがPlexon社³⁷⁴⁾、Blackrock社³⁷⁵⁾、CED社³⁷⁶⁾、Neuralynx社³⁷⁷⁾、TDT社³⁷⁸⁾などの各社から販売されている。

6. 電極研究

本節では、電極とその周辺技術に関する課題と研究の現状について、特にBMIへの応用という観点から述べる。

近年、BMI技術の発展とともに、その基盤技術としての神経プローブ研究にも注目が集まっている^{379,380)}。実際、最近のBMI技術の発展の大きなきっかけとなっているのは、神経プローブを含めた神経信号計測技術とコンピュータも含めた信号処理技術の進歩であり、また逆に、長期間にわたる臨床応用を目指す場合にボトルネックとなっているのも神経プローブ技術であると考えられる。神経プローブ研究は、電気生理学の歴史と同じだけの長い歴史を有しているが、特にBMIシステムに用いられる細胞外計測法に関しては、原理自体には大きな進歩はなく、微細化を中心とした作成技術を中心に進歩が重ねられてきた。しかしながらここ数年は、微細化以外の観点からの開発研究も行われるようになってきている。

6.1 理想的なBMI用神経プローブ

神経プローブは、BMI研究だけでなく、神経生理学、循環生理学を含めた生理学の各分野においても重要なツールであるが、ここではBMIのために用いられる神経プローブを想定して議論する。求められる性能の多くは他の応用例においても共通であるが、最終的にヒトに対して、長期間安定した安全な信号入出力が求められるため、主に動物を対象として急性あるいは短期間の実験が行なわれる生理学の実験とは、いくつかの点では大きく異なる。(例えばBMI研究において現状では細胞外計測のみが行われる。)求められる性能をまとめると下記ようになる。

- (1) 何より安全であること。(ケーブルを通じた感染を防ぐためには無線化が望ましい。またプローブ自体による神経組織へのダメージも防ぎたい。無線化のための回路による発熱の影響についても注意が必要である。)
- (2) 長期間安定して(症例によっては数十年間に亘って、安定して)計測や刺激が可能であること。(対象の神経細胞からずれないこと、あるいはずれたとで位置調節が可能であること。さらに結合組織等によるSN比の低下が起らないことも含む。)
- (3) 多チャンネルの計測や刺激が可能であること。(必要なチャンネル数は、操作対象の機器の自由度、あるいは感

覚生成の場合には、生成感覚の時空間的解像度等から決まる。例えば多自由度の義手を自在に操作したい場合には、Wessbergらの研究³⁹⁰⁾によると、1自由度あたり数十個～百個程度の第一次運動野の神経細胞の信号が利用できれば、ある程度安定した制御が可能であることが示唆されている。より上位の部位の信号であれば、チャンネル数はより少なくてもすむ可能性もある。また義手の動きをいくつかの動作に限定するなどの工夫も考えられるし、また義手の感覚は各指先にあるだけでも、初期段階としては十分に役に立つという考えもありうる。)

- (4) 個々の神経細胞または神経線維に対して独立した計測や刺激が可能であること。(ここは症例や戦略によって議論が必要な部分である。複数の細胞からの信号が混ざったものを計測したあとで前述のような方法で分離する戦略も採れるし、混ざった信号のままでも利用可能なケースもある。)

以上の条件を兼ね備えた神経プローブが理想的であると考えられるが、以下に、現状と課題について述べる。

6.2 従来型の神経プローブとMEMS神経プローブ

神経生理学の分野では従来、前述のように微細なガラス管や金属線を利用した手作りの神経プローブが使用されてきた。MEMS技術により様々な神経プローブが開発されるようになってきた昨今においても、こうした従来型のプローブは一定の優位性と根強い需要があり、例えば動物を用いたBMI研究の多くは、こうした従来型のプローブで行われているのが現状である。その理由としては、入手の容易さの問題、チャンネル数の問題(MEMS技術により電極自体のチャンネル数を増やすことは容易となったが、配線や計測系の多チャンネル化が困難であるため、結局従来型のプローブのチャンネル数で十分ということになる)、頑強性の問題(現状のMEMSプローブは、従来型のプローブに比べると、まだ脆いものが多い)、位置調節の問題が挙げられる。

MEMS電極の代表的な例として、前節では、ミシガン大学のグループによるシリコンプローブ電極とユタ大学のグループによる剣山型電極の2つを紹介しており、特に後者においては動物での評価を経た上で近年ではヒトの末梢神経や運動野にも埋め込まれ、BMIシステムとして動作させた例³⁹¹⁾が報告されている。どちらのMEMS電極も現在においても生体適合性の向上、さらに無線化を目指した研究が行われている。

6.3 現状の課題と将来に向けた取り組み

前述のように、動物を対象としたBMIの基礎研究において従来型のプローブが依然有用であり続けていることから示唆されるように、現状の神経プローブは、従来型とMEMS型のどちらについても、未解決の課題が多く残されている。以下では課題と共に解決に向けた取り組みについて紹介する。

A) チャネル数に関する問題

上述の要求性能の(3)にも挙げたように、義手の制御、あるいは人工視覚の生成には、現状のプロープのチャネル数では不足している。チャネル数の増加は、計測系、刺激系全体の問題でもあるが、少なくとも配線の問題を解決するためには、無線化が欠かせないと考えられる。そしてそのためには、体内である程度の信号処理を行う必要も生じる。近年、この課題に取り組む研究グループは多く、また、32ch程度のものは市販もされるようになってきている。(TBSI社⁴⁴⁾など)

B) 電極周囲の組織反応の問題

神経組織内に神経プロープのような人工物を長期間留置すると、周辺で結合組織等によるカプセル化が生じ、電極抵抗の増大により、信号計測や刺激が最終的には不可能になる場合のあることが知られている。近年、プロープ周辺でのアストロサイト等の挙動の研究が詳細に行なわれるようになった⁴⁵⁾が、完全に防止する方法については未解決である。関連の学会でもこの課題に関する研究報告が増加している。薬剤を生分解性材料に混ぜて徐々に放出するなどの方法も提案されている。著者らのグループでは、プロープ表面にMPCポリマーをコーティングすることがある程度有効であることを報告している⁴⁶⁾。

C) 「ずれ」の問題、神経組織へのダメージの問題

現状の神経プロープは、MEMS型のものであっても、基部が太く、周囲の神経組織を圧迫しダメージを与えていることが危惧されている。また、構造が硬いために、柔軟な神経組織の動きに追従できずずれ、計測していた神経細胞を逃してしまったり、あるいはその「ずれ」自体が神経組織へのダメージになることも危惧されている。

こうした問題に対処するために、プロープのさらなる微細化に向けた取り組みがなされている。豊橋技術科学大学の石田らによるウイスキー結晶を利用したプロープ⁴⁷⁾は、微細であることに加えて、信号処理回路との親和性、柔軟性、強靭性を兼ね備えていることから期待を集めている。

また柔軟化に向けた取り組みも、著者らと同大の竹内研究室との共同研究をはじめとして内外の複数のグループによって進められている。さらに、柔軟プロープ研究の応用として、プロープと流路構造を統合することによって薬液注入機能を有するプロープも報告されている⁴⁸⁾。柔軟なプロープはそのままでは神経組織へと刺入できなくなってしまうため、刺入方法に関しても様々な提案がなされている。

7. おわりに

以上、微小電極法の基礎とその応用について解説した。当初は、刺激電極について、あるいはマイクロニューログラフィー^{46,47)}などの末梢神経系を対象とした研究についても記述できればと考えていたが、微小電極による計測、特にBMI研究を想定とした課題などに話題を絞らせて頂い

た。また、電極表面での電気二重層に関する話題も割愛させて頂いた。([48, 49]に詳しい。)本稿が実際に実験を開始する場面で、少しでも役に立つことができれば幸いである。

参考文献

- [1] 特集 神経科学実験マニュアル, 生体の科学, Vol.36, No.4, pp.252-438, 1985.
- [2] Miguel A.L. Nicolelis: Methods for NEURAL ENSEMBLE RECORDINGS, CRC Press, 1999(1st), 2008(2nd).
- [3] 櫻井芳雄: マルチニューロン活動を記録するために: 脳の科学, Vol.25, pp.19-26, 2003.
- [4] 船橋新太郎: 脳内ニューロン活動の測定法, 最新運動生理学実験法(今泉和彦, 石原昭彦 編), 大修館, pp.248-253, 1998.
- [5] B. オークレー, R. シューファー 著: 実験神経生物学, 東海大学出版会, 1986.
- [6] 平本幸男, 竹中敏文 編: 実験生物学講座5 電氣的測定法, 丸善, 1982.
- [7] 竹中敏文, 平本幸男 編: 実験生物学講座9 神経生物学, 丸善, 1986.
- [8] 森寿, 真鍋俊也, 渡辺雅彦, 岡野栄之, 宮川剛: 改訂第2版 脳神経科学イラストレイテッド, 羊土社, 2006.
- [9] 真鍋俊也, 森寿, 片山正寛 編: 無敵のバイオテクニカルシリーズ特別編 脳・神経研究の進めかた, 羊土社, 1998.
- [10] 伊藤正男, 塚原伸晃 編: 新生理科学大系8(神経生理学総論), 医学書院, 1989.
- [11] 星宮望 著: 生体情報計測, 森北出版, 1997.
- [12] 小澤謙司, 福田康一郎 総編集: 標準生理学第7版, 医学書院, 2009.
- [13] 岡田泰伸 編: 新パッチクランプ実験技術法, 吉岡書店, 2001.
- [14] 片淵俊彦: ラットの手術法, 日生誌, Vol.63, No.10, pp.261-270, 2001.
- [15] 内野善生, 佐々木成人, 中隣克己, 板東武彦, 本郷利憲, 森茂美, 森大志: ネコの手術・実験法, 日生誌, Vol.63, No.10, pp.271-316, 2001.
- [16] P.Flecknell 著: ラボラトリーアニマルの麻酔—げっ歯類・犬・猫・大動物—, 学窓社, 1998.
- [17] J. J. VAN DONGEN, R. REMIE, J. W. RENSEME and G. H. J. VAN WUNNIK: MANUAL OF MICROSURGERY ON THE LABORATORY RAT, ELSEVIER, 1990.
- [18] <http://www.fh-co.com/>
- [19] <http://narishige-group.com/>
- [20] George Paxinos, Charles Watson: The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates, Academic Press, 1997.
- [21] <http://www.nihonkohden.co.jp/>
- [22] <http://www.gcdental.co.jp/>
- [23] <http://www.neuralynx.com/>
- [24] G. Buzsaki: Large-scale recording of neuronal ensembles, Nature Neuroscience, Vol.7, pp.446-451, 2004.
- [25] K. D. Wise, et al.: Microfabrication Techniques for Integrated Sensors and Microsystems, SCIENCE, Vol.254, pp.

- 1335-1342, 1991.
- [26] P. K. Campbell, et al.: A silicon-based, three-dimensional neural interface: manufacturing processes for an intracortical electrode array, *IEEE Trans. BME*, Vol.38, No.8, pp.758-768, 1991.
- [27] <http://www.neuronexustech.com/>
- [28] <http://blackrock.dreamhosters.com/>
- [29] 銅谷賢治, 伊藤浩之, 藤井宏, 塚田稔 編: 脳の情報表現—ニューロン・ネットワーク・数理モデル—, 朝倉書店, 2002.
- [30] F. Rieke: *SPIKES*, The MIT Press, 1997.
- [31] Wim van Drongelen: *Signal Processing for Neuroscientists*, ELSEVIEW, 2007.
- [32] 高橋晋, 安西祐一郎, 櫻井芳雄: 独立成分分析を応用したマルチニューロン活動の解析, *脳の科学*, Vol.25, pp.53-60, 2003.
- [33] 白石泰士, 片山統裕, 高橋哲也, 菊池修, 辛島彰洋, 中尾光之: 複素独立成分分析を用いた複数ニューロン活動のリアルタイム介別処理システム, *信学技報*, Vol.107 (263), pp.75-80, 2007.
- [34] <http://www.plcxoninc.com/>
- [35] <http://www.ced.co.uk/>
- [36] <http://www.tdt.com/>
- [37] 櫻井芳雄, 八木透, 小池康晴, 鈴木隆文: ブレイン・マシン・インタフェース最前線—脳と機械を結ぶ革新技術—, 工業調査会, 2007.
- [38] 脳を活かす研究会 編: *ブレイン・マシン・インタフェース—脳と機械をつなぐ*, オーム社, 2007.
- [39] J. Wessberg, et al.: Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates, *Nature*, Vol. 408, pp.361-365, 2000.
- [40] L. R. Hochberg, et al.: Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia, *Nature* Vol.442, pp.164-171, 2006.
- [41] <http://www.trianglebiosystems.com/>
- [42] VS. Polikov, et al: Response of brain tissue to chronically implanted neural electrodes, *J. Neuroscience Methods* Vol.148, pp.1-18, 2005.
- [43] N. Taniguchi, et al: Biocompatibility of wire electrodes improved by MPC polymer coating, *Proc of the 3rd International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering*, pp.122-125, 2007.
- [44] T. Kawano, et al: Fabrication and properties of ultrasmall Si wire arrays with circuits by vapor-liquid-solid growth, *Sensors and actuators A*, Vol.97-98, pp.709-715, 2002.
- [45] S. Takeuchi, et al: Parylene flexible neural probe with micro fluidic channel, *Lab on a Chip*, Vol.5, pp.519-523, 2005.
- [46] 間野忠明: *Microneurography(I)*, *臨床脳波*, Vol.25, No.7, pp.493-500, 1983. (II, III も)
- [47] 特集 *Microneurography(微小神経電極図法)の臨床応用 BRAIN and NERVE*: 医学書院, Vol.61, No.3, 2009.
- [48] 特集 *電極技術, 医用電子と生体工学*, Vol.21, No.7, pp.501-575, 1983.

- [49] 青木幸一, 森田雅夫, 堀内勉, 丹羽修 著: 微小電極を用いる電気化学測定法, 社団法人電子情報通信学会, 1998.

著者紹介



鈴木隆文 (すずき たかふみ) :

1995年東京大学大学院工学系研究科計数工学専攻修士課程修了。1998年東京大学大学院工学系研究科先端学際工学専攻博士課程修了。同年東京大学国際・産学共同研究センター助手。2002年東京大学大学院情報理工学系研究科特任講師。2007年より同研究科講師。博士(工学)。神経工学、生体工学に関する研究に従事。日本生体医工学会、IEEEなどの会員。

発火確率モデルを用いた無入力条件下での培養神経細胞ネットワークの結合強度解析

芳賀 達也*, 深山 理, 鈴木 隆文, 満淵 邦彦(東京大学)

Analysis of synaptic connectivity of neural network in vitro with no input
using firing probabilistic model

Tatsuya Haga*, Osamu Fukayama, Takafumi Suzuki, Kunihiko Mabuchi (Tokyo University)

Abstract

Synaptic plasticity causes memory and learning in our brain. A statistical method has been proposed to extract and to visualize synaptic connectivity as parameters of the firing probabilistic model according to recorded neural firings. In this paper, the validity of the method is assessed with firings simulated with Hodgkin-Huxley Model and recorded from cultured neural network. In the result, it was found that strength of synaptic transmission can be estimated with our method.

キーワード: 培養神経細胞ネットワーク, 機能的結合強度, 確率モデル, 機械学習

(in vitro, cultured neural network, probabilistic model, functional connectivity, machine learning)

1. はじめに

脳という情報処理システムの理解は、科学的意義のみならず、Brain Machine Interface への応用や生物の柔軟性を模倣したシステムの構築など、工学的応用にもつながることが予想され、非常に重要な問題である。

脳の情報処理は神経細胞の発火がネットワーク上を伝わっていくことでなされ、生物の適応や学習はシナプス結合の変化(シナプス可塑性)によるネットワークの性質の変化から起こると考えられている⁽¹⁾。すなわち脳の情報処理を理解するためにはネットワークの構造およびその変化について調査し検討するための手法が必要となる。

神経細胞活動の電気生理学的計測手法のうち、細胞内外の電位差(膜電位)を直接計測する細胞内電位計測は詳細な活動計測が可能であり、これを用いればシナプス後電位を計測することでシナプス結合の強度を直接評価することが可能であるが、同時計測できる細胞数には限りがある。よって大規模神経細胞ネットワークについてこの手法により解析を行う際には膨大な組み合わせについて計測する労力を必要とし、またリアルタイムで変化しているようなネットワークについては全体の変化を把握することは不可能である。一方、細胞外計測は、多細胞同時計測や慢性計測、活動中の生体からの計測が細胞内計測に比べて容易であるが、シナプス結合の強度を直接計測することはできない⁽²⁾。それゆえ、細胞外電位計測から得られる各細胞の発火

時間の系列(発火系列)を基にして神経細胞ネットワークの構造や変化について推定し可視化することができれば、大規模な神経細胞ネットワークの解析が容易になると考えられる。

発火系列から神経細胞間の結合を推定する手法としては相互相関やそれに基づく特徴量⁽³⁾、線形自己回帰分析に基づく特徴量 Granger Causality を用いた手法⁽⁴⁾などがあるが、定常を仮定しているものが多く、動的な変化をとりうるネットワークに対し静的な解析しか行うことができない問題がある。本稿では、まず神経細胞間の結合状態をモデルパラメータとしてもつ発火確率モデルを考え、その尤度関数と計測データに基づいてパラメータを適応的に求めていくことで、変化に追従しながら結合状態の推定を行うことを可能とする解析手法を提案する。また同手法の検証実験として、神経細胞ネットワークのシミュレーション信号および培養神経細胞からの計測データに対する解析を行った。

2. 手法

〈2・1〉 定義と仮定 確率変数 x 、平均 μ 、標準偏差 σ である正規分布の確率密度関数を $\text{normpdf}(x, \mu, \sigma)$ 、累積分布関数を $\text{nomcdf}(x, \mu, \sigma)$ と書く。神経細胞数を N とし、神経細胞 i の発火系列 $x_i^{(t)}$ は、神経細胞 i が時刻 t において発火したとき 1、発火していないとき 0 である系列とする。

以下の仮定に基づいて確率モデルを導出する。

(1) 時刻 $t-\tau$ である神経細胞 j が発火したとき、シナプス結

合により時刻 t において神経細胞 i に $a_{\tau}^{(i,j)}$ の膜電位変化が起こる。 $1 \leq \tau \leq T$ とし、 $a_{\tau}^{(i,j)}$ を結合強度と呼ぶ。

(2) 膜電位変化が重なって起こった場合、線形の重ね合わせが起こる。

(3) 結合強度 $a_{\tau}^{(i,j)}$ 及び静止膜電位 $\xi^{(i)}$ は時間変化しうる。

(4) 膜電位には標準偏差 σ の正規雑音加わっている。

(5) 神経細胞 i の膜電位がある閾値 $\theta^{(i)}$ を越えたとき発火する。

〈2・2〉 発火確率モデルの導出 仮定 1,2,3 より、時刻 t における神経細胞 i の膜電位 $v_t^{(i)}$ は

$$v_t^{(i)} = \sum_{j=1}^N \sum_{\tau=1}^T a_{\tau}^{(i,j)} x_{t-\tau}^{(j)} + \xi^{(i,t)} \dots \dots \dots (1)$$

であり、さらに仮定 4 からの確率密度は

$$p(v_t^{(i)}=v) = \text{normpdf}(v, \sum_{j=1}^N \sum_{\tau=1}^T a_{\tau}^{(i,j)} x_{t-\tau}^{(j)} + \xi^{(i,t)}, \sigma) \dots \dots \dots (2)$$

仮定 5 から時刻 t における神経細胞 i の発火確率は $v_t^{(i)} \geq \theta$ となる確率であるから

$$P(x_t^{(i)}=1) = P(v_t^{(i)} \geq \theta) = \int_{\theta}^{\infty} p(v_t^{(i)}=v) dv \dots \dots \dots (3)$$

となる。これを計算すると発火確率は正規分布の累積分布関数を用いて

$$P(x_t^{(i)}=1) = \text{normcdf}(\sum_{j=1}^N \sum_{\tau=0}^T a_{\tau}^{(i,j)} x_{t-\tau}^{(j)} + \xi^{(i,t)}, \theta, \sigma) \dots \dots \dots (4)$$

と書ける。ここで、 $\epsilon^{(i,t)} = \xi^{(i,t)} - \theta^{(i)}$ である。

〈2・3〉 確率モデルに基づくパラメータ推定 確率モデルに基づき、計測データから得られた発火系列 $x_t^{(i)}$ から各時刻におけるパラメータ $a_{\tau}^{(i,j)}$ および $\epsilon^{(i,t)}$ の推定を行う。具体的には、各時刻での対数尤度

$$Q_t = \sum_{i=1}^N [x_t^{(i)} \log(P(x_t^{(i)}=1)) + (1-x_t^{(i)}) \log(P(x_t^{(i)}=0))] \dots \dots \dots (5)$$

を設定し、勾配法を用いて各時刻において対数尤度を増加させる方向にパラメータの更新を行う。更新式は

$$a_{\tau}^{(i,j,t+1)} = a_{\tau}^{(i,j,t)} + K \frac{\partial Q_t}{\partial a_{\tau}^{(i,j,t)}}, \forall i, j, \tau \dots \dots \dots (6)$$

$$\epsilon^{(i,t+1)} = \epsilon^{(i,t)} + K \frac{\partial Q_t}{\partial \epsilon^{(i,t)}}, \forall i \dots \dots \dots (7)$$

K は学習係数である。この推定法により、時間変化に追従しながらパラメータを推定することができる。

ここで、細胞外計測のみを行った場合、 σ は実際の値が観測できず、またこのモデルにおいて $a_{\tau}^{(i,j)}$, $\epsilon^{(i,t)}$ に加えて σ を未知とするとパラメータが一意に定まらないため、 σ は任意の値で固定して解析を行う。この場合、真値を σ_{true} とすると、学習される $a_{\tau}^{(i,j)}$, $\epsilon^{(i,t)}$ は真値が σ/σ_{true} 倍されたものとなる。 σ を任意とする理由は σ_{true} についての情報が無いことだけでなく、 σ をあ

まり小さな値にすると正規分布の累積分布関数がステップ関数に近づき、(6)(7)式で得られる勾配が 0 や無限大に近い極端な値になってしまうこともある。真値に近い値を得るためには例えば細胞外計測の対象細胞のうちひとつに対し細胞内電位計測を平行して行い、そこで得られたノイズの標準偏差として用いる方が考えられるが、真値を得ることよりも相対的な大きさや時間変化を得ることを手法の目的としている。

3. 実験

〈3・1〉 シミュレーション実験 手法の検証実験として、図 1 に示す 4 細胞のネットワークの活動をサンプリングレート 10000Hz でシミュレーションし生成した 10 分間の信号に対して解析を行った。膜電位のシミュレーションモデルとして Hodgkin-Huxley モデル⁽⁵⁾、シナプス伝達モデルとして α シナプスモデル⁽⁶⁾

$$I_j = \sum_{k(j)} \sum_m C_{jk} \alpha(t - \tau_{jk} - t_{okm}) \dots \dots \dots (8)$$

$$\alpha(t) = (t/\tau_c) e^{-t/\tau_c} \Theta(t) \dots \dots \dots (9)$$

$$\Theta(t) = 1(t \geq 0), 0(t < 0) \dots \dots \dots (10)$$

を用い、膜電位には標準偏差 $\sigma=0.4$ の正規雑音を与えた。ここで、シナプス後細胞 j 、シナプス前細胞 k について I_j は時刻 t でのシナプス後電流、 C_{jk} はシナプス後電流の最大値を決めるパラメータ(結合強度に対応する)、 τ_c は時定数、 τ_{jk} はシナプス前細胞の発火からシナプス後電流が生じるまでの時間遅れである。 t_{okm} はシナプス前細胞の発火時刻であり、今回はシナプス前細胞の電位が閾値 0mV を超えた時刻とした。Hodgkin-Huxley モデルの式およびパラメータの値は先行文献⁽⁵⁾に従った。また、シナプスモデルの時定数は先行文献⁽⁶⁾に従い $\tau_c = 2ms$ とし、 C_{jk} および τ_{jk} はそれぞれ表 1、表 2 に示した値を各シナプスに与えた。

以上の条件で生成した信号から閾値を超えるスパイクの極大点を発火として検出し、 $K=0.6$, $\sigma=7$ として提案手法による解析を行った。その結果、推定された $a_{\tau}^{(i,j)}$ 、 $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ を図 2 に、

データ終了時での $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ 、 $\arg\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ を表 3、表 4 に、各細胞の $\epsilon^{(i,t)}$ の時間変化を図 3 に示す。

図 2 の $a_{\tau}^{(i,j)}$ を見ると、 $\tau = 5-10ms$ に強い成分が現れており、そのピーク値である $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ ははじめは増加しているが時間経過に伴い増加が鈍くなり収束していつているのがわかる。これが推定された結合の強度および時間遅れを示している。

表 1 の C_{jk} と表 3 の $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ には対応が見られ、シナプスが存在し C_{jk} が大きいほど $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ も大きい値となった。よって結合強度については望ましい推定が行われているといえる。

表 2、表 4 に示したように最大値までの時間遅れ

$\text{argmax}_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$ は、理論値である $\tau_{jk} + \tau_s$ と一致しておらず、かなり大きな値となった。これはシナプス伝達が起こってから発火し、極大点に達するまでに大きな時間遅れが存在することによって考えられる。その時間遅れは入力の数によって大きく変化する現象も報告されている⁽⁶⁾。提案手法ではこの時間遅れについては考慮しておらず、シナプス結合の時間遅れについて正しく推定できているとはいえない結果となった。

$a_{\tau}^{(i,j)}$ については $a_{\tau}^{(i,j)}$ の増加に従って減少しているが、 $a_{\tau}^{(i,j)}$ の増加が鈍ってから一定値付近を推移しており、静止膜電位がほぼ一定であることを示している。

表1 各シナプスに与えた C_{jk}
Table 1. C_{jk} of each synapse

	Cell0	Cell1	Cell2	Cell3
Cell0	/	/	/	/
Cell1	100nA	/	/	120nA
Cell2	50nA	150nA	/	/
Cell3	/	/	70nA	/

Maximum post-synaptic current (corresponding to synaptic strength) C_{jk} (nA) of synapse between pre-synaptic cells(in rows) and post-synaptic cells(in cols).

表2 各シナプス伝達に与えた時間遅れ τ_{jk}
Table 2. τ_{jk} , Time delay of synapse transmission

	Cell0	Cell1	Cell2	Cell3
Cell0	/	/	/	/
Cell1	1ms	/	/	0.5ms
Cell2	2ms	1.5ms	/	/
Cell3	/	/	0.8ms	/

Time delay τ_{jk} (ms) of synapse transmission between pre-synaptic cells(in rows) and post-synaptic cells(in cols).

表3 推定された $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$
Table 3. Estimated $\max_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$

	Cell0	Cell1	Cell2	Cell3
Cell0	0	1.18	0.88	0.98
Cell1	9.46	0	2.24	9.88
Cell2	5.33	11.65	0	1.42
Cell3	2.21	2.93	8.79	0

Estimated bond strength between pre-synaptic cells(in rows) and post-synaptic cells(in cols).

表4 推定された $\text{argmax}_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$
Table 4. Estimated $\text{argmax}_{\tau} a_{\tau}^{(i,j)}$

	Cell0	Cell1	Cell2	Cell3
Cell0	/	5ms	16.5ms	2.9ms
Cell1	7.6ms	/	13.4ms	6ms
Cell2	11ms	6.6ms	/	13.3ms
Cell3	18.9ms	12.5ms	8.3ms	/

Estimated time delay of synapse transmission between pre-synaptic cells(in rows) and post-synaptic cells.(in cols)

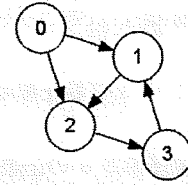


図1 シミュレーションを行った神経細胞ネットワーク
(ノード:神経細胞,エッジ:シナプス結合)
Figure 1. Simulated Neural Network
(Node:Neuron, Edge:Synapse)

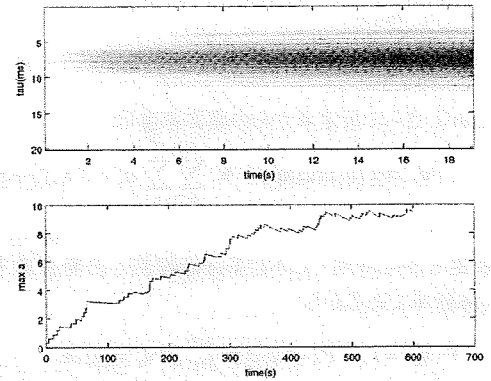


図2 上段:各時刻で推定された $a_{\tau}^{(1,0)}$
下段: $\max_{\tau} a_{\tau}^{(1,0)}$ の時間変化

Figure 2. Upper: $a_{\tau}^{(1,0)}$ estimated in each time
Lower:Change of $\max_{\tau} a_{\tau}^{(1,0)}$

Upper: Plot $a_{\tau}^{(1,0)}$ at each τ and t by color. White means zero, deeper red means larger value. The rise at $\tau = 5-10$ ms means estimated post-synaptic potential (synaptic connectivity) from cell 0 to cell 1.

Lower: $\max_{\tau} a_{\tau}^{(1,0)}$ is peak value of upper graph, which seem to converge around 9.5.

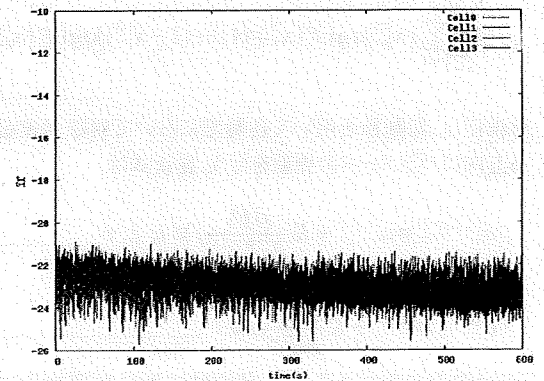


図3 推定された $e^{i,j}$
Figure 3. Estimated $e^{i,j}$

<3-2> 培養神経細胞の解析 次に、図4のような実際に培養された神経細胞ネットワークの自然発火に対して解析を行った。ラット胎児の脳皮質から得られた細胞を、8×8の白金黒電極が備え付けられた Multi Electrode-array Dish(MED; アルファメッドサイエンス社 MED-P210A)上に培養し、培養10

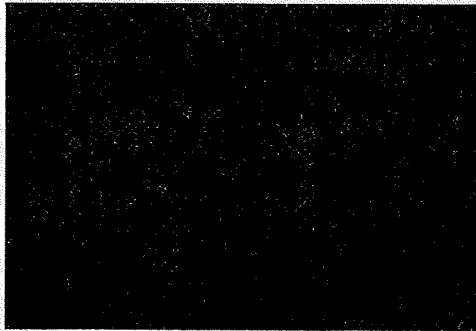


図4 MED上に培養された神経細胞
Figure 4. Neurons cultured on MED. Black squares are electrodes ($20\mu\text{m}\times 20\mu\text{m}$). Distance between electrodes is $100\mu\text{m}$.

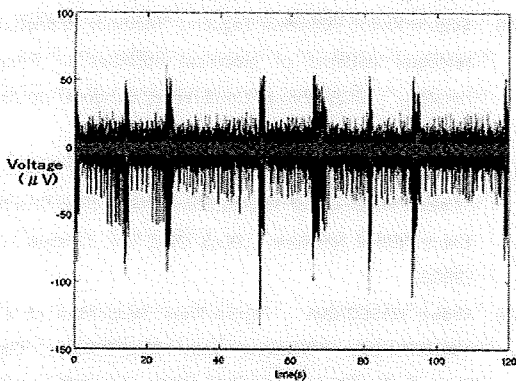


図5 MEDにより計測された自然発火の一部
Figure 5. A part of spontaneous firings recorded with MED
A part of signals recorded from 32 electrodes on MED are plotted.

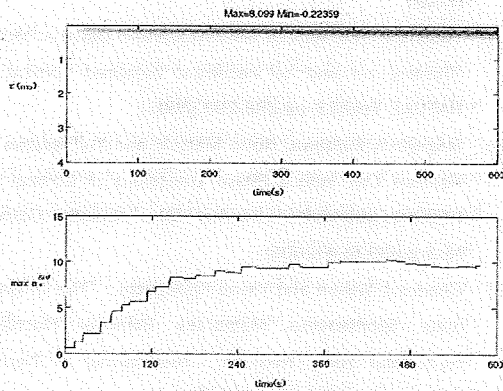


図6 上段:各時刻で推定された $a_{\tau}^{(1,2,i)}$
下段: $\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$ の時間変化
Figure 6. Upper: $a_{\tau}^{(1,2,i)}$ estimated in each time
Lower: Change of $\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$
Upper: Plot $a_{\tau}^{(1,2,i)}$ at each τ and i by color. White means zero, deeper red means larger value. The rise at $\tau = 5\sim 10\text{ms}$ means estimated post-synaptic potential (synaptic connectivity) from cell 2 to cell 1.
Lower: $\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$ is peak value of upper graph, which seem to converge around 10.

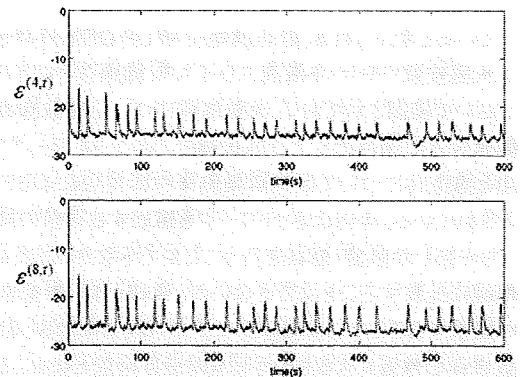


図7 推定された $e^{(4,i)}$ (上段), $e^{(8,i)}$ (下段)
Figure 7. Estimated $e^{(4,i)}$ (Upper), $e^{(8,i)}$ (Lower)
Two Examples of estimated $e^{(i,j)}$.

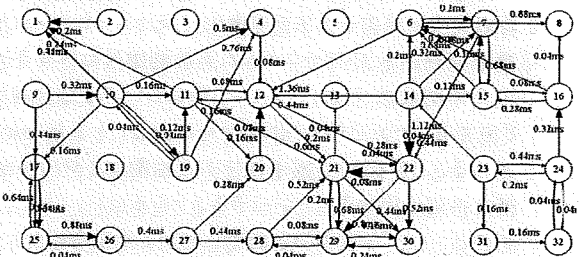


図8 提案手法により推定された神経細胞ネットワークの構造
Figure 8. Estimated structure of neural network with our method
Nodes means electrodes on MED. Edges are estimated synaptic connectivity with time lapse affixed. Larger directions means stronger connectivity.

日目に 4×8 の 32 チャンネルの電極からサンプリングレート 25000Hz で 10 分間の細胞外電位計測を行った。計測された 32 チャンネルの信号を重ねてプロットしたものを図 5 に示す。全チャンネルで同期したバースト発火が不定期に起こっているのが観察できる。この計測電位において閾値を越えるスパイクの極大点を神経発火として検出することにより発火系列を得た。それに対し、一電極を一細胞として $K=0.5, \sigma=7$ として提案手法を適用した結果、推定された $a_{\tau}^{(1,2,i)}$ および $\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$ を図 6 に、 $e^{(4,i)}, e^{(8,i)}$ を図 7 に示す。

$a_{\tau}^{(1,2,i)}$ は $\tau = 0.2\text{ms}$ 付近にピークが現れ、そのピーク値が収束していつていることがわかる。これが電極 1 から電極 2 へのシナプス結合強度を示していると考えられる。計測開始後 10 分(データの終わり)における $a_{\tau}^{(1,2,i)}$ から電極上の細胞間の結合を有向グラフ化したものを図 8 に示す。矢印先端の大きさは結合強度の最大値 $\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$ 、エッジに付記してある時間は最大値までの時間遅れ $\arg\max_i a_{\tau}^{(1,2,i)}$ に対応している。これが提案手法により可視化された対象のネットワーク構造である。

$e^{(i,j)}$ にはチャンネル間で同期した一時的な上昇が見られ、それ以外の時間はほぼ一定の値を示している。この傾向は他のチャンネルにおいても同じように見られた。これは細胞の静止膜電位が UP, DOWN 状態⁽⁷⁾⁻⁽⁹⁾の 2 状態間を遷移していることを示

していると考えられる。静止膜電位の UP, DOWN 状態については大脳皮質⁽⁷⁾やラット海馬スライス⁽⁸⁾、線条体⁽⁹⁾など様々な部位において確認されており、大脳皮質については細胞集団全体の興奮性と抑制性のシナプス伝達のバランスによって生まれ、海馬と線条体については神経細胞単体の性質によるとの考察がなされている。今回はネットワークを構成する多数の神経細胞のうち一部しか計測・解析を行うことができなかつたためこの説と単純に比較することはできないが、今後、解析対象を細胞全体へ拡張することでこの現象がシナプス入力によるものか神経細胞自体の性質によるものかは切り分け可能となることが期待される。

4. 考察と結論

本論文では発火確率モデルに基づき神経細胞間の結合強度を適応的に学習する手法を提案し、シミュレーション信号および培養神経細胞ネットワークからの実計測信号に対する解析を行った。その結果、シミュレーション信号については結合強度を正しく推定することができ、実計測信号に対しても推定の結果値が収束することを示し、提案手法を相互相関など他の手法と同様に結合推定に用いることができることを示した。さらにこの手法の利点として、データ中の各時刻において推定を行うことが可能であり、推定結果を動画にすることにより時間変化するネットワークの直感的な可視化が可能になる。

しかし、シナプス伝達の時間遅れについては正しく推定できないことが明らかになり、培養神経細胞に対する解析にもいくつかの問題点が明らかとなった。ひとつは一つの電極から複数の神経細胞の活動が計測されている可能性を無視し、一電極を一細胞として扱ってしまっていることである。この問題はスパイクソーティング⁽¹⁰⁾⁽¹¹⁾などによる神経活動の分離を行うことで解決可能であると考えられる。ふたつめは電極数に対し神経細胞の数が多すぎるため、発火が計測されない神経細胞が大半を占めることである。前章での考察でもふれたが、提案手法では発火が計測されない神経細胞については解析ができないため、今回の解析により推定された結合は実際のネットワークのうちごく一部でしかないということになる。この結果からネットワーク全体について推定を試みることは非常に解くことの難しい劣決定問題であり、多くの仮定をおかなければ解析手法の改善により解決することは望めない。近年は高密度な電極の開発⁽¹²⁾⁽¹³⁾やカルシウムイメージング⁽¹⁴⁾などの新たな計測法により神経活動の高解像度計測が可能となっており、これらを用いて計測点を増やすことでより詳しいネットワークの推定を行うことができると考えられる。

今後は、電気刺激下の培養神経細胞や記憶・学習が行われているラット脳など、シナプス結合に大きな変化が起きていることが予想される条件下の神経細胞ネットワークに対して本手法による結合推定を行い、変化するネットワークの解析手法として適していることを示す予定である。また、本手法による推定を計測と並行してオンラインで行うことのできるプログラムを実装し、神経細胞ネットワークに対して結合の変化に基づき電気刺激などのリアルタイムフィードバックを行うシステムを構築することを計画

している。

文 献

- (1) 工藤 卓・林 勲・田口 隆久:「神経細胞とシナプス可塑性」, 知能と情報 (日本知能情報ファジィ学会誌), Vol.18, No.3 pp.362-368 (2006)
- (2) Yasuhiko Jimbo : "Ensemble Recording of Neuronal Activity", The Japan Society of Mechanical Engineers, No.06-30 p.1-2 (2006)
神保 泰彦:「ニューロン群の活動計測と解析」, 日本機械学会 第16回インテリジェント・システム・シンポジウム講演論文集, No.06-30 p.1-2 (2006)
- (3) Suguru Kudoh, Takahisa Taguchi: "Methods to analyze spatio-temporal patterns of electrical activities in living neural networks", SICE Annual Conference, Sapporo, pp.2343-2346 (2004)
- (4) Alex J. Cadotte, Thomas B. Demarse, Ping He, Mingzhou Ding: "Causal Measures of Structure and Plasticity in Simulated and Living Neural Networks", PLoS ONE, Vol. 3, Issue 10, e3355 (2008)
- (5) Hideo HASEGAWA : "Spike-Train Responses of a Pair of Hodgkin-Huxley Neurons with Time-Delayed Couplings", Journal of the Physical Society of Japan, Vol.69, No.11 p.3726-3735 (2000)
- (6) Eugene M. Izhikevich : "Which Model to Use for Cortical Spiking Neurons?", IEEE TRANS. ON NEURAL NETWORKS(SPECIAL ISSUE ON TEMPORAL CODING), Vol.15, Issue.5, p.1063-1070 (2004)
- (7) Youenshu Shu, Andrea Hasenstaub and David A. McCormick : "Turning on and off recurrent balanced cortical activity", NATURE, Vol.423, pp.288-293 (2003)
- (8) Shigeyoshi Fujisawa, Norio Matsuki and Yuji Ikegaya : "Single Neurons Can Induce Phase Transitions of Cortical Recurrent Networks with Multiple Internal States", Cerebral Cortex, Vol.16, No.5 p.639-654 (2006)
- (9) Charles J. Wilson and Yasuo Kawaguchi : "The Origins of Two-State Spontaneous Membrane Potential Fluctuations of Neostriatal Spiny Neurons", The Journal of Neuroscience, Vol.16, No.7 p.2397-2410 (1996)
- (10) Michael S Lewicki : "A review of methods for spike sorting: the detection and classification of neural action potentials", Network: Computation in Neural Systems, Vol.9, No.4 p.R53-R78 (1998)
- (11) Kyung Hwan Kim and Sung June Kim : "Neural Spike Sorting Under Nearly 0-dB Signal-to-Noise Ratio Using Nonlinear Energy Operator and Artificial Neural-Network Classifier", IEEE TRANSACTIONS ON BIOMEDICAL ENGINEERING, Vol.47, No.10 p.1406-1411 (2000)
- (12) U. Frey, U. Egert, F. Heer, S. Hafizovic and A. Hierlemann :

"Microelectronic system for high-resolution mapping of extracellular electric fields applied to brain slices", *Biosensors and Bioelectronics*, Vol.24, Issue.7 pp.2191-2198 (2009)

(13) Martin Jenkner, Marco Tartagni, Andreas Hierlemann and Roland Thewes : "Cell-Based CMOS Sensor and Actuator Arrays", *IEEE JOURNAL ON SOLID-STATE CIRCUITS*, Vol.39, No.12 pp.2431-2437 (2004)

(14) 中村 健:「神経細胞内局所的カルシウム濃度変化のリアルタイムイメージング法」, *日本薬理学雑誌*, Vol.121, No.5 pp.357-364 (2003)

2点での腱振動刺激によって生成される運動感覚に関する基礎的研究

矢口博彬*, 深山理, 鈴木隆文, 満渕邦彦 (東京大学)

A basic study of movement sensation evoked by vibrating two tendons

Hiroaki Yaguchi*, Osamu Fukayama, Takafumi Suzuki, Kunihiko Mabuchi (The University of Tokyo)

Abstract

Kinesthesia (movement sensation) plays an important role in motor control of humans. Feedback of movement sensation from artificial limbs to the nervous system is promising to improve the function of artificial limbs. However, perceptions of only slow movement can be evoked by the stimulation techniques for movement sensation. We have examined the way to evoke perceptions of fast movement by vibrating two tendons.

キーワード：運動感覚，腱振動刺激，筋紡錘
(movement sensation, tendon vibration, muscle spindle)

1. 導入

腕を切断した方の生活を支援する道具に、義手が存在する。筋電位や神経の活動電位といった生体信号を利用することで、失われた腕と同様に直感的に操作可能な義手の開発が進められている。そのような義手の運動速度や関節角度といった運動情報を運動感覚として装着者に提示することは、義手の正確な運動制御に必要と考えられる。なぜなら、運動感覚の障害は姿勢維持の困難、指の擬似アテオシス等の運動失調を引き起こす^{[1],[2]}ためである。これより、ヒトは運動感覚を用いて運動のフィードバック制御を行っている^[3]と推測される。

ヒトに運動感覚を生成する手法には、腱振動刺激^{[3],[4]}や関節周辺皮膚の伸長^[5]等が提案されている。しかし、従来の運動感覚生成手法によって生成される感覚は、5.5deg/s程度の低速な関節運動の感覚に制限される^[3]。これに対し、ヒトは日常的に数十deg/sの関節運動を行っている。義手の運動情報をフィードバックする手法には、より高速な運動の感覚を生成することが望まれる。

運動感覚生成手法のひとつである腱振動刺激は、図1のように皮膚上から腱を振動する方法である。本研究では、肘の伸展運動の感覚に着目し、腱振動刺激によって高速な運動の感覚を生成する方法を検討する。これは、未だ不明な点が多い運動感覚生成の機序を解明することにも繋がる^[6]と期待される。

2. 原理

運動感覚の生成に重要な感覚受容器は、筋紡錘及び皮膚の遅順応(SA)型の機械受容器とされる。腱振動刺激は筋紡錘を活動させることが知られており、それによって運動感

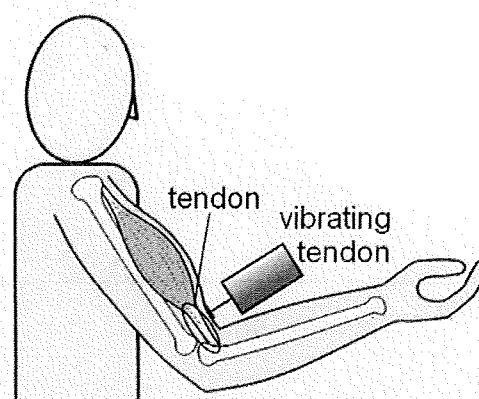


図1 上腕二頭筋の遠位側の腱への振動

Figure1. Vibration to the distal tendon of biceps

覚を生成していると言われている。筋紡錘は、筋中に分布し、自身を含む筋の伸展に反応する感覚受容器である。よって、腱振動刺激によって肘伸展の感覚を生成する場合、肘の屈筋に対して刺激を行う必要がある。

筋紡錘は、ひとつの筋中に数十-数百個存在する。そのひとつのみを電気的に刺激し、活動を誘発した場合、運動感覚は生成されない^[6]。単一の筋紡錘のみを刺激した場合、刺激されているものを除く多くの筋紡錘が、運動は起こっていないことを中枢神経系に伝える。このため、中枢神経系における感覚情報の統合によって、運動は起こっていないと判断されたと考えられる。一方、腱振動刺激は複数の筋紡錘の活動を誘発する^[7]ため、運動感覚の生成が可能である。同様に運動速度についても複数の筋紡錘からの情報が統合されるとすれば、多くの筋紡錘を活動させることで、高速な運動の感覚が生成されたと考えられる。

2.1 協働筋への振動

肘の屈曲や伸展のような要素的な運動であっても、複数の筋が働いて、その運動が行われる。ある要素的な運動に関与する筋群を、協働筋と呼ぶ。肘の屈曲に関する協働筋を重要な順に3つ挙げると、上腕筋、上腕二頭筋、腕橈骨筋となる。これら協働筋は全て肘の伸展によって伸長される。そのため、その中に存在する筋紡錘は全て、肘の伸展によって活動する。したがって、これらの腱を同時に振動することで、高速な運動の感覚が生成されると考えられる。

2.2 筋の両端への振動

腱振動刺激によってある要素的な運動の感覚を生成する先行研究において、多くの場合はひとつの腱のみが振動されている(例: 文献[4],[8])。この時、腱振動刺激は、振動した腱に繋がる筋に存在する筋紡錘の全てを効果的に刺激できているわけではない。例えば、肘伸展の感覚を生成する場合には、上腕二頭筋の遠位側の腱が振動されてきた。この時の筋紡錘の活動を調べた研究[7]によれば、振動の1周期に1回の頻度で発火した上腕二頭筋の筋紡錘は、32ユニット中6ユニットであった。恐らく、振動が筋の筋の両端に繋がる腱を同時に振動することで、より多くの筋紡錘の活動を強く誘発できるのではないかと考えられる。

3. 実験方法

3.1 実験環境

図2のように、被験者は椅子に座り、両腕を支持台に乗せて水平に保つ。この状態で右肘の屈筋の腱に対して振動を加えた。振動刺激にはダイヤモンドシステム社製の

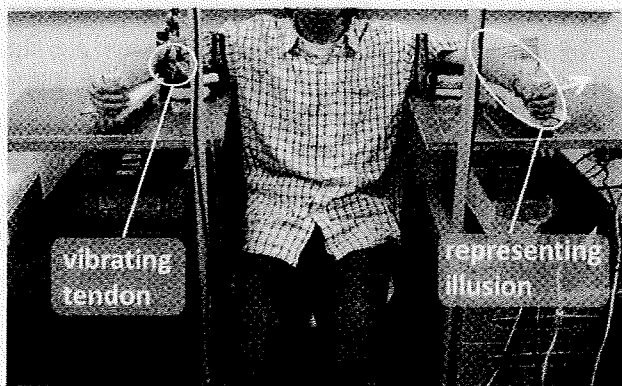


図2 実験の様子。被験者は両腕を支持台に乗せ、水平に保つ。右腕の腱への振動によって感じられる運動の速度を、左腕で表現する。

Figure 2. A picture of experiment. Vibration is applied to tendons existing at right upper limb, which is horizontally supported. Subjects move their left forearm according to kinesthesia of right forearm.

機械刺激装置(DPS-270)及び Brüel & Kjaer 社製の機械刺激装置(振動子: Mini-shaker Type 4810, アンプ: Power Amplifier Type 2718)を用いた。PC上で生成した刺激パルス列をこれらの機械刺激装置に入力し、振動を行った。振動の周波数は100Hz, 両振幅約1mm, 振動期間10sとした。腱への振動中に肘の回転を感じた時、その運動速度を反対側の左腕で表現するよう、被験者に指示した。左前腕と右前腕の運動速度の差を取り、これを腱振動刺激によって被験者が錯覚した運動の速度と見なした。運動速度の計測には、KEYENCE社製の画像処理システム(CV-3500)を利用した。被験者の肘及び手の位置にLEDを配置し、CV-3500によってLEDの位置を取得した。図3に実験系のブロック線図を示す。

3.2 実験1: 協働筋への振動

20代の健常な男性9名を対象に、肘伸展の感覚を生成するため、右腕上腕二頭筋及び腕橈骨筋の遠位側の腱を経皮的に振動した。肘の屈曲に関わる協働筋のうち、最も重要な筋は上腕筋である。しかし、上腕筋は上腕二頭筋の深部に存在しており、皮膚上から刺激することが難しい。そのため、上腕二頭筋と腕橈骨筋への刺激を行った。肘窩付近に振動子を当てて上腕二頭筋の腱を、前腕腹側に振動子を当てて腕橈骨筋の腱を振動した。上腕二頭筋のみ、腕橈骨筋のみ、その双方への刺激を、ランダムな順で各10回、計30回行った。10回毎に3-4分の休憩を挟んだ。実験の開始時と休憩後には、上腕二頭筋への刺激用と腕橈骨筋への刺激用の振動子をそれぞれ振動させ、前腕伸展の錯覚が生じることを確認した後に実験を行った。

3.3 実験2: 筋の両端への振動

20代の健常な男性8名を対象に、右腕上腕二頭筋の遠位側の腱及び近位端を振動した。遠位側は腱を振動したが、

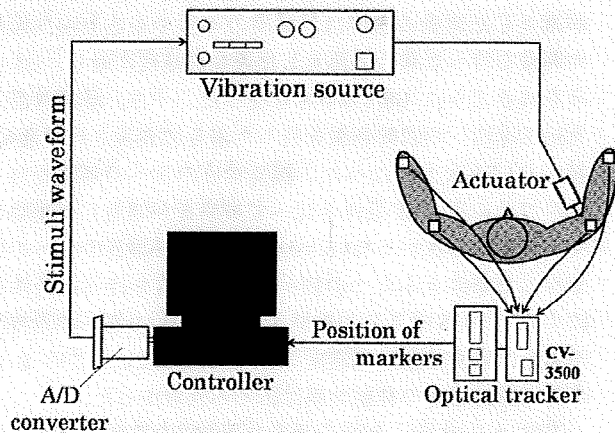


図3 実験系のブロック線図

Figure 3. Block diagram of the experiment system

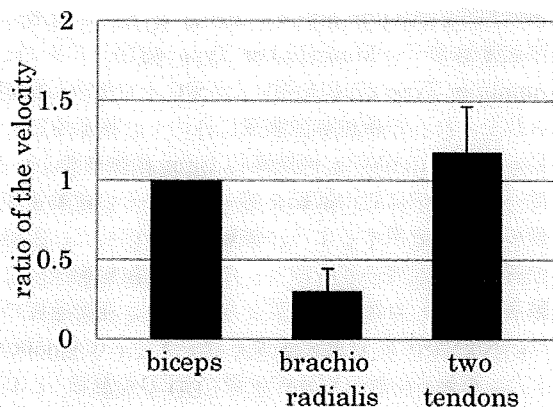


図4 実験1の結果. 被験者が表現した運動速度の平均. ただし, 上腕二頭筋への刺激を基準にした比率.

Figure 4. Ratios of the velocity of movement illusions evoked by vibrating distal tendon of brachioradialis or two tendons of synergistic muscles to distal tendon of biceps.

近位側は腱への移行部付近で筋を振動した. これは, 上腕二頭筋の近位側の腱が他の筋の深部に存在し, 皮膚上から振動することが難しいためである. 遠位側の腱のみ, 近位端のみ, その双方への振動を, ランダムな順で各10回, 計30回行った. 実験1と同様に, 10回毎に休憩を挟み, 実験開始時と休憩後は振動によって前腕伸展の錯覚が生じることを確認した後に実験を行った.

4. 実験結果

実験1, 2の結果をそれぞれ図4, 図5に示す. 図は, 各条件において被験者が錯覚した運動の速度の全被験者平均を表す. ただし, 上腕二頭筋の遠位側の腱を振動した条件において被験者が錯覚した運動速度の値で正規化した.

実験1の結果, 腕橈骨筋への刺激を行った場合に被験者が錯覚した運動の速度は, 従来方法である上腕二頭筋への刺激を行った場合に錯覚した運動の速度に対し, 図4に示されるように69.9%小さくなった. 一方, 腕橈骨筋及び上腕二頭筋への同時刺激を行った場合に表現された運動速度は11.7%大きくなった. 腕橈骨筋のみへの刺激を行った条件では, 他の2条件と比べて被験者が錯覚した運動の速度が有意に小さかった($\alpha=0.05$). 上腕二頭筋のみへの刺激を行った条件とふたつの筋への同時刺激を行った条件を比較すると, 9名中7名の被験者で, ふたつの筋への同時刺激の場合に高速な運動の錯覚が生じた. ただし, この2条件の間に運動速度の有意な差は認められなかった.

実験2の結果, 上腕二頭筋の近位端を振動した条件で被験者が錯覚した運動の速度は, 従来方法である遠位側の腱を振動した条件に対し, 図5に示されるように26.1%小

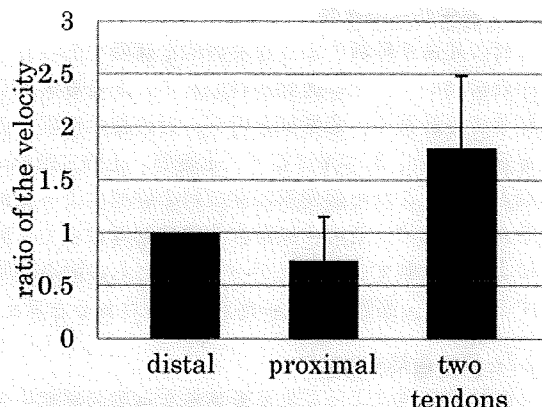


図5 実験2の結果. 被験者が表現した運動速度の平均. ただし, 遠位側への刺激を基準にした比率.

Figure 5. Ratios of the velocity of movement illusions evoked by vibrating proximal tendon or two tendons of biceps to distal tendon of that.

さくなった. 一方, 両側を同時に振動した場合に表現された運動速度は79.7%大きくなった. 遠位側の腱と近位端を同時に振動した条件では, 他の2条件と比べて被験者が錯覚した運動速度は有意に大きかった($\alpha=0.05$).

5. 考察

実験2において, 上腕二頭筋の両端を振動した場合, その一方を振動した場合よりも高速な運動の感覚が生成された. これは, 両端での振動により, 多くの筋紡錘の活動が強く誘発されたためと考えられる. 両端で同時刺激を行うことによって, 上腕二頭筋に由来するIa群線維及び皮膚受容器から中枢神経系への感覚入力が増加すると推測される. しかし, 近位端への振動によって生じる皮膚受容器の活動は, 運動錯覚の生じる肘からの距離が大きいため, 運動感覚の生成に寄与するとは考え難い. したがって, 両端で同時に振動した時に生成される運動速度が大きくなった要因は, 上腕二頭筋由来の筋紡錘の活動を強く誘発したことにあると考えられる. ただし, 両端で同時に振動した場合に被験者が錯覚した運動の速度は, 従来方法と比べて79.7%の増大であるから, 目標とする数十deg/sには届いていない. そのため, より高速な運動の感覚を生成する方法をさらに検討していく必要がある.

一方, 実験1において, 協働筋への同時振動を行った場合には, 必ずしもその一方への刺激と比べて高速な運動の感覚を生成しなかった. その要因のひとつに, 腕橈骨筋の肘屈曲運動における重要性が上腕二頭筋と比べて低いことが考えられる. あるいは, 腕橈骨筋の腱への振動は, 腕の末端に近い位置で行っている. そのため, 振動開始時に前

腕が振動子から離れるように動き、筋紡錘を効果的に刺激できなかった可能性も考えられる。

なお、腱振動刺激を義手に応用するためには、wearableな刺激デバイスの開発が必要となる。また、腱振動刺激を利用できない場合に使用する運動感覚生成手法を提案し検証することも望まれる。今後は、これらのことも視野に入れて研究を行っていく必要がある。

6. まとめ

義手の運動制御を正確に行うためには、義手の運動情報を運動感覚としてフィードバックすることが必要と考えられる。本研究では、腱振動刺激によって高速な運動の感覚を生成する方法を検討した。その結果、筋の両端において同時に振動を行うことで、その一方を刺激する場合と比べて高速な運動の感覚を生成できることが分かった。ただし、目標とする速度には到達しなかった。したがって、今後はより高速な運動の感覚を生成する方法をさらに検討していく必要がある。

参考文献

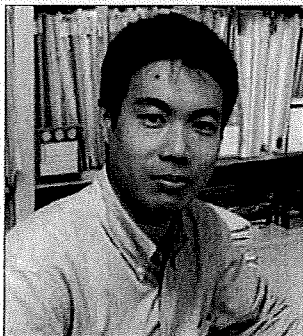
- [1] A.B. Serman, H.H. Schaumburg and A.K. Asbury: "The acute sensory neuronopathy syndrome: a distinct clinical entity"; *Annals of Neurology* 7, 1980, pp.354-358.
- [2] A. Sghirlanzoni, D. Pareyson and G. Lauria: "Sensory neuron diseases"; *Lancet Neurology* 4, 2005, pp.349-361.
- [3] J.P. Roll and J.P. Vedel: "Kinaesthetic role of muscle afferents in man, studied by tendon vibration and microneurogram"; *Experimental Brain Research* 47, 1982, pp.177-190.
- [4] 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* 95, 1972, pp.705-748.
- [5] D.F. Collins and A. Prochazka: "Movement illusion evoked by ensemble cutaneous input from the dorsum of the human hand"; *The Journal of Physiology* 496(3), 1996, pp.857-871.
- [6] G. Macefield, S.C. Gandevia and D. Burke: "Perceptual responses to microstimulation of single afferents innervating joints, muscles and skin of the human hand"; *The Journal of Physiology* 429, 1990, pp.113-129.
- [7] J.B. Fallon and V.G. Macefield: "Vibration sensitivity of human muscle spindles and golgi tendon organs"; *Muscle Nerve* 36, 2007, pp. 21-29.
- [8] D.F. Collins, K.M. Refshauge, G. Todd and S.C. Gandevia: "Cutaneous receptors contribute to kinesthesia at the index finger, elbow, and knee"; *Journal of Neurophysiology* 94(3), 2005, pp.1699-1706.

Development of flexible neural probes for neuroprostheses

Takafumi Suzuki

Graduate School of Information Science and Technology,
University of Tokyo

We developed various flexible neural probes to achieve a minimally invasive interface for neuroprostheses. Some of these probes have microfluidic channels through which chemicals can be injected into neural tissues. Some function as electrochemical probes for multidimensional recordings of neural activities. This presentation focuses on the projects concerning: (1) surface probes for recording electrocorticogram (ECoG) signals, which have mesh structures for improved fitting to the curved surface of the brain and for enabling simultaneous recording of intracortical and ECoG signals; (2) penetrating probes for the brain and spinal cord reinforced with dissolvable materials such as polyethylene glycol to increase their mechanical stiffness while inserting into neural tissues; and (3) regeneration-type neural probes mainly for peripheral nerves with multiple bundled microfluidic channels that serve as guidance tubes for regenerated axons and also as fluidic pathways for injecting chemicals.



Dr. Takafumi Suzuki received the Bachelor of Engineering degree from the University of Tokyo in 1993 (Department of Mathematical Engineering and Information Physics) and received the Master of Engineering degree from the University of Tokyo in 1995. He received the Doctor of Engineering degree from the University of Tokyo in 1998. He worked for four years at University of Tokyo Center for Collaborative Research as a research associate. He is currently an Associate Professor in the Department of Information Physics and Computing, Graduate School of Information Science and Technology, the University of Tokyo. His research interests include neural engineering and neuroscience. In particular, his research focuses on nerve electrodes (for CNS and PNS), neural control of artificial hands, artificial touch sensation for artificial hand, neural control of artificial organs, and Brain-Machine Interface systems.

Regeneration-Type Nerve Electrode Using Bundled Microfluidic Channels

TAKAFUMI SUZUKI, NAOKI KOTAKE, KUNIHICO MABUCHI, and SHOJI TAKEUCHI
University of Tokyo, Japan

SUMMARY

Neural interface devices that will allow signals from the human nervous system to control external equipment are extremely important for the next generation of prosthetic systems. A novel multichannel regeneration-type nerve electrode designed to record from and stimulate peripheral nerves has been developed to allow the control of artificial hands and to generate artificial sensations. In this study a novel flexible regeneration microelectrode based on the nerve regeneration principle was designed and fabricated using MEMS technologies. The electrode, which was fabricated on a 25- μm -thick parylene C substrate, has multiple fluidic channels. Each fluidic channel was 100 μm wide \times 30 μm high \times 1500 μm long and featured multiple electrodes inside them as recording and stimulating sites. They also served as guidance channels for the regenerating axons. © 2009 Wiley Periodicals, Inc. *Electron Comm Jpn*, 92(4): 29–34, 2009; Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com). DOI 10.1002/ecj.10059

Key words: nerve regeneration electrode; brain-machine interface; neural interface; peripheral nervous system.

1. Introduction

1.1 Neural interface devices

Recently, neural interface devices have been developed, both in Japan and abroad, to provide direct information exchange with the nervous system of a living organism. Realization of multichannel long-term stable signal input/output for the nervous system would make possible the

Contract grant sponsors: Ministry of Health, Labor and Welfare (H17-nano-010) and the Ministry of Education, Culture, Sports, Science and Technology (Fundamental Research (A) No. 17206022).

control of prosthetic limbs by motor commands, the control of artificial organs using information from the autonomic nervous system, or the creation of artificial haptics and other artificial sensing by means of external sensory signals.

We may think of information exchange with the central nervous system or the peripheral nervous system. When dealing with the central nervous system (in particular, the brain), implanted devices are placed inside the skull. This can provide robustness to motion and other effects, and we may expect comparatively stable signal input/output, but an event such as infection would be critical. On the other hand, in the case of the peripheral nervous system, an accident would have only a local influence, and the interpretation of measured neural signals is easier due to the closeness to effectors and receptors. In addition, by dealing with the peripheral nervous system, we may avoid unexpected effects caused by direct signal exchange with the central nervous system. However, the closeness of the implanted devices to muscles makes the devices vulnerable to motion effects, and it is very difficult to emplace devices steadily so that they do not shift toward nerve tissues. Nerve regeneration electrodes using the regenerative functions of peripheral nerves have been developed as neural interface devices for peripheral nerves [1, 2]. As will be explained below, the aforementioned shift can be prevented in principle with such devices, which promises wide application.

1.2 Nerve regeneration electrode

Here we explain the principle and features of nerve regeneration electrodes. When axons (nerve fibers) of neural cells in the peripheral nervous system are severed, the axons degenerate on the distal side (as seen from the cyton), leaving Schwann cells (Wallerian degeneration). On the proximal side, the axons regenerate from the cut-off site (one or several Ranvier's nodes). The regenerating axons are known to be drawn toward the distal side.

Thus, if one cuts a nerve bundle and places a multipore electrode between the severed stumps, axons regen-

© 2009 Wiley Periodicals, Inc.

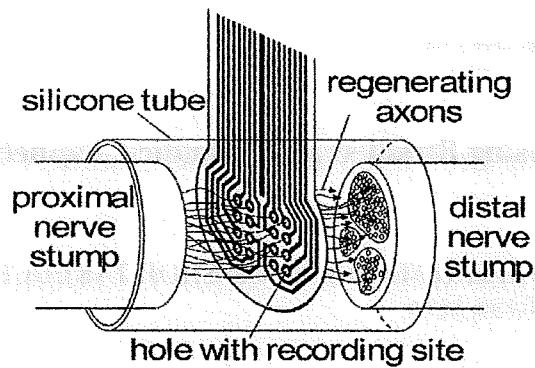


Fig. 1. Configuration of nerve regeneration electrode (conventional model).

erate through the pores (Fig. 1). Every pore is operated as an independent electrode. The nerve regeneration electrode based on this principle has the following main features.

(1) Since regenerating axons pass through electrode pores, the electrode and nerve bundle are firmly coupled both mechanically and electrically. This offers the possibility of long-term stable simulation and measurement (with no spatial shift, in contrast to needle electrodes).

(2) Simulation and measurement of a single nerve fiber or multiple nerve fibers can be produced by adjusting the pore diameter.

(3) Multichannel signal input/output can be implemented, which was difficult with conventional metal and glass electrodes.

In previous studies, such nerve regeneration electrodes used mainly silicon substrates. Recently, polyimide polymers have been employed as well. In any case, the electrodes have a planar structure as shown in Fig. 1, with the electrode pores and interconnections implemented on the same plane. Therefore, all nerve fibers passing through a pore contact the electrode at only one point. In the case of myelinated fibers, degradation of the S/N ratio may be unavoidable, depending on the spatial relations between the Ranvier's nodes and the electrode pores (see Fig. 2, left). In addition, when multiple regenerating axons pass through an electrode pore, it is difficult to distinguish between individual signals.

1.3 Purpose of present study

To solve the above problems, in this study we propose a new nerve regeneration electrode with 3D structure using bundled microfluidic channels, and verify its feasibility. Previously, we developed flexible nerve electrodes and multichannel nerve electrodes using polyimide, parylene C

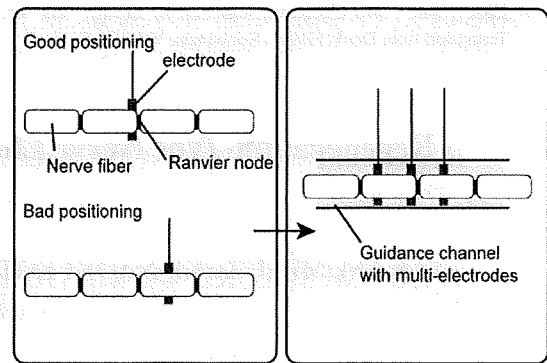


Fig. 2. Distance between measurement point and Ranvier's node for single nerve fiber.

(polychloro-*p*-xylylene), and other polymer materials [3–5]. The previous technologies were incorporated into the new nerve regeneration electrode proposed in this study.

Below we report the concept, design, and fabrication of the new electrode and on its basic evaluation.

2. Fabrication of Electrode Array

2.1 Concept

The concept of a nerve regeneration electrode proposed in this study is illustrated in Fig. 3. Fluid channels are arranged on a film substrate, and then bundled by coiling the substrate. Axons regenerate while passing through the guidance channels. When coiling the substrate, all gaps are filled with an adhesive so that axons cannot advance by routes other than the channels. Multiple electrodes are arranged inside every channel. As a result, electrodes with a good S/N ratio can be selected near the Ranvier's nodes (Fig. 2, right). In addition, when multiple

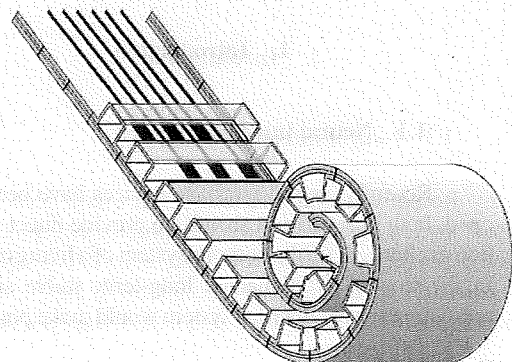


Fig. 3. Configuration of new nerve regeneration electrode integrated with multiple guidance channels.