

Fig.6 Estimation results of finger joint angle using proposed and conventional method.

指関節角度推定結果と、実験の際に測定した指関節角度の実測値を示す。Fig.6(a)より、動作指である第2指は提案法、従来法ともに計測値に追従していることが分かる。さらに、Fig.6(b)に示した動作を行っていない第3指については、従来法が第2指と同様の挙動を示しているのに対し、提案法では計測値とよい一致を示していることが確認できる。これは、提案法の動作指識別により、実験で行った動作が第2指によるものと識別され、この識別結果を提案法である式(4)の重み W_k によって第3指の推定角度結果に反映したためである。

以上の結果より、従来法の問題点であった筋電信号の重量の問題をベイジアンフィルタによる動作指識別により解決し、複数指関節角度の同時推定が行えることを示した。

6. ロボットハンドを用いた提案手法の実機検証実験

本研究では、提案した動作指識別を用いた複数指関節角度推定手法を実際の義手に適用した際の挙動や問題点を明らかにするために、ロボットハンドを用いた実機検証実験を行った。実験で用いたロボットハンドは、手指部分で15自由度をもつ、DCモータによるダイレクト駆動型のロボットハンド(ロボットハンド/アームシステム、川淵機械技術研究所製、特注仕様)である。今回の実験で用いたシステムの概略図をFig.7に示す。本システムでは、推定用のPCを用いて、第2章で述べた6箇所計測位置での表面筋電信号から、提案手法を用いて計10箇所の指関節角度を同時にリアルタイムで推定する。次に、得られた推定角度をTCP/IP通

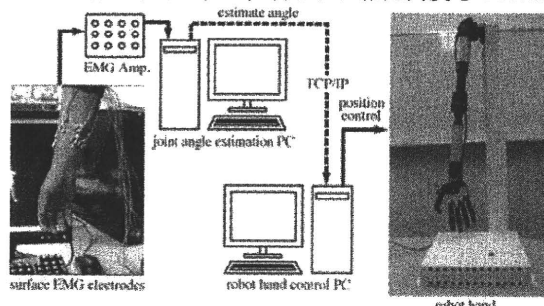


Fig.7 Schematic of myoelectric hand experiment system.

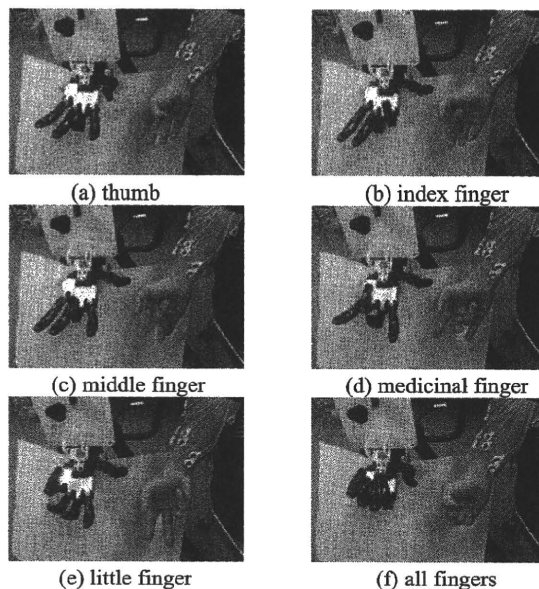


Fig.8 Motion of myoelectric hand system which implements our estimation algorithm.

信により0.1秒毎にロボットハンド制御用のPCに送信する。ロボットハンド制御用のPCは、送信された推定角度を目標値として位置制御を行うことによりロボットハンドを駆動させるシステムとなっている。なお、今回の実験では被験者の右手の表面筋電信号を用いて角度推定を行い、左手側のロボットハンドを駆動させる実験を行った。

提案手法によるロボットハンド駆動実験の様子をFig.8に示す。Fig.8から、被験者とロボットハンドが同様の形状となっていることが確認できる。このことから、提案手法により被験者の複数の指関節角度を同時に推定することが可能であり、得られた推定結果を用いることによりリアルタイムで義手を制御できる可能性を示唆した。

一方、今回のロボットハンドを用いた実験の結果から、指を屈曲状態で保持すると若干の振動を起こすという問題が明らかとなった。この振動はFig.6(a)の角度推定結果でも現れており、屈曲状態で保持すると筋電信号のパルス頻度が減少するためである。この問題については、今後推定手法を見直すことにより解決する必要がある。

7. むすび

本研究では、ベイジアンフィルタによる動作指識別を用いた複数指関節角度推定手法を提案した。提案手法を用いたロボットハンドによる実機検証実験を行い、6箇所計測した表面筋電信号から計10箇所の指関節角度をリアルタイムで推定することが可能であることを示した。

参考文献

- [1] 横井浩史, 兪文偉, 成瀬継太郎: 筋電義手の新しい制御法, PO アカデミージャーナル, Vol.10, No.1, pp.9-12 (2002)
- [2] 高橋玄頭, 満洲邦彦, 鈴木隆文: 針筋電信号を用いた指の運動の推定 - 神経回路モデルの有効性と適用方法の検討 -, 生体医工学, 第46巻 CD-ROM (2008)
- [3] 山水康隆, 荒木望, 小西康夫, 満洲邦彦, 石垣博行: 表面筋電信号のヒストグラムを用いた指関節角度推定手法, 第23回生体・生理工学シンポジウム, pp.183-184 (2008)

分化誘導神経回路と初代培養神経回路の共培養系における機能的結合の形成

Functional Integration of Stem Cell-derived Neuronal Networks and mouse primary Cultured Neuronal Networks

高山 祐三¹, 森口 裕之², 小谷 潔², 鈴木 隆文¹, 満淵 邦彦¹, 神保 泰彦²
 Yuzo TAKAYAMA¹, Hiroyuki MORIGUCHI², Kiyoshi KOTANI², Takafumi SUZUKI¹,
 Kunihiko MABUCHI¹, Yasuhiko JIMBO²

¹ 東京大学大学院情報理工学系研究科, ² 東京大学大学院新領域創成科学研究科

¹ Graduate School of Information Science and Technology, University of Tokyo

² Graduate School of Frontier Sciences, University of Tokyo

Abstract Grafting new neurons derived from pluripotent stem cells into the damaged region is essential for restoring appropriate functions of the brain. Little is known, however, about network-wide interactions between stem cell-derived neurons and CNS neurons. In this study, we establish a co-culture method of stem cell-derived neuronal networks and CNS networks, and observe spontaneous activity in the co-culture samples. By using a microfabricated poly(dimethylsiloxane) (PDMS) device comprising two culture compartments and 20 connecting microconduits, we are able to compartmentalize P19-derived neurons and mouse cortical neurons and connect them via the microconduits. Furthermore, we combine the co-culture device and a microelectrode array (MEA)-based recording system and record spontaneous activity in the co-cultured networks. We confirm that periodic synchronized bursting in both neuronal networks occurs during the second week *in vitro* and that P19-derived neurons in the co-cultured networks show different developmental processes than those grown in monoculture.

1. はじめに

近年, ヒト iPS 細胞[1]に代表される幹細胞を利用し損傷を受けた脳組織の回復を試みる「神経再生医療」が大きな注目を集めているが, これまで生体由来神経細胞と幹細胞より人為的に誘導された神経細胞との機能的結合とその相互作用について細胞活動レベルで報告した例はない. これは脳内に移植した幹細胞由来神経細胞の形態・機能の経時変化を追跡することの技術的困難さに大きな要因があると考えられる.

そこで, 本研究では幹細胞由来神経回路網と CNS 神経細胞の初代培養神経回路網の共培養を行い, 両者の間に生じる自発電気活動現象とその相互作用を観測することを目的とする. 著者らはポリマー樹脂の一種である PDMS (ポリジメチルシロキサン) と微細加工技術を用いて 20 個の微細トンネル構造を有する共培養チャンパーの作製を行った. この培養チャンパーを用いることで生体 CNS 由来, 幹細胞由来の二種の神経細胞をそれぞれ混在させず独立した状態で培養することを可能とした. 本発表ではマウス大脳皮質神経細胞とマウス胚性腫瘍幹細胞(P19 細胞)由来の神経細胞との共培養と, 微小電極アレイ基板 (Microelectrode arrays; MEA)を用いて自発電気活動計測を行った結果を報告する.

2. 実験方法

2.1 培養チャンパー作製

共培養チャンパーはソフトリソグラフィ技術を用いて PDMS に微細加工を行うことで作製した. 培養チャンパーの鋳型作製はガラス基板上に厚型フォトレジスト (SU-8 3005, 3050; Microchem.)を二層パターンニングして行った. まず SU-8 3005 を厚さ 5 μm でスピコートし, 20 個の微細トンネル構造鋳型を作製した (幅 50 μm). 次に SU-8 3050 を厚さ 100 μm でスピコートし, スペーサ構造を作製した. このスペーサ構造は, 後述のように, パンチを用いて PDMS シートに培養部を作製する際の目印として, また微細トンネル構造を長さを一定に保つために用いられる. 以上の通りに作製した

鋳型構造付きガラス基板上に PDMS を厚さ 3 mm で流し込み, 固化させる. 固化した PDMS をガラス基板上より剥離し, パンチで 2 つの培養部を貫通した後に, 培養ディッシュ又は MEA 上に接着させ, 共培養チャンパーを作製した.

2.2 細胞培養

2.1 で作製した PDMS 培養チャンパー内に胎令 16 日の ICR マウス胎児から採取した大脳皮質神経細胞及び P19 細胞から誘導した神経細胞を播種し, 培養を行った. 著者らは P19 細胞より人為的に誘導された神経細胞もシナプス結合を形成し神経回路網特有の活動を示すことを報告しており[2], その培養・分化誘導法の簡便さから本研究の対象として最適な対象であると考えている.

また, 2 種の神経細胞を分離した状態で共培養を行った結果を定量的に評価するために, 培養チャンパー内への播種前にそれぞれの神経細胞種を脂肪親和性マーカーを用いてラベリングを行った. 本実験では PKH マーカー (Sigma-Aldrich) を使用して P19 由来神経細胞を PKH26 (赤色蛍光) で, マウス大脳皮質神経細胞を PKH67 (緑色蛍光) を用いて染色を行った.

2.3 自発電気活動計測

共培養を行った各種神経回路網における自発電気活動を MEA 計測システムを用いて多点同時計測を行った. 本研究で用いた MEA 基板は, 電極配置は 8×4 の電極を 1 ブロックとし, 間隔 500 μm の 2 ブロック構造からなるものを用いた. 電極サイズは 30 μm 角, 電極中心間距離は 180 μm である. また, 電極インピーダンスは 1 kHz で数 100 k Ω である.

64 点の電極を通じて測定される細胞外電位変化を, 増幅器を通した後, A/D 変換を行いハードディスクに記録する. 計測信号帯域は 100–5000 Hz を用い, 標本化周波数 25 kHz, 12 bit でサンプリングを行った. 尚, 全てのデータ解析ソフトウェアは PV-WAVE (Visual Numerics) を利用して作成した.

3. 実験結果と考察

図1に作製したPDMS共培養チャンパーの概略図と、MEA基板上に接着させた様子を示す。高さ5 μ mの微小トンネルは細胞体は侵入できないが神経突起はその内部に伸展が可能な構造となっている [3]。この微小トンネル構造部を2つの電極ブロックの間に配置することで2種の培養神経回路をトンネル構造を介したシナプス結合を形成させた状態で共培養を行い、またそれぞれの神経回路における自発電気活動の計測が可能となる。

P19由来神経細胞とマウス大脳皮質神経細胞の共培養系における自発電気活動計測結果を図2に示す。ここでは共培養開始後11, 18日目の試料における全64点ラスタプロットと、8点の測定電極における細胞外電位波形を示している。培養11日目において、マウス大脳皮質培養神経回路とP19由来神経回路の両者に渡る周期的な同期バースト現象が観測されていることがわかる。こうした同期バースト発火は同培養時期(2週目付近)の大脳皮質初代培養神経回路において特徴的な活動現象であるのに対して、同時期のP19由来培養神経細胞の単独培養においては自発電気活動はほぼ観測されていない[2]。この結果より、本実験で行った共培養法により、両者の神経回路間に機能的結合が形成され、特にP19由来培養神経回路における自発電気活動の生成に大きな影響を与えることがわかった。一方で、培養18日目ではこうした両者の神経回路網に及ぶ自発電気活動の相互作用は観測されず、P19由来神経回路の活動がほぼ抑制されるとの結果となった ($n=4$)。これは、培養2週目付近において、両者の神経回路における電気活動の相互作用により誘発された現象

である可能性も考えられる。今後は薬理操作や電気刺激、または培養開始時期の調節を行うことで、生体CNS神経回路と幹細胞由来神経回路の機能的結合の形成とその維持機能について更に検討と考察を行う予定である。

4. 結言

本研究では、微細加工技術を応用し、幹細胞由来神経回路と生体CNS神経回路の共培養系の構築と、その活動計測を行った。2つの培養部を微小トンネルで接続したPDMSシートとMEA計測システムを用いることで、CNS初代培養系と分化誘導系培養神経回路網との間の自発電気活動相互作用について新たな知見を得ることができた。

参考文献

- [1] K. Takahashi, K. Tanabe, M. Ohnuki, M. Narita, T. Ichisaka, K. Tomoda, and S. Yamanaka, "Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors", *Cell*, Vol. 131, pp. 861-872 (2007)
- [2] 高山 祐三, 斎藤 淳史, 森口 裕之, 小谷 潔, 神保 泰彦, "幹細胞由来培養神経回路の構築と電気活動計測", *電気学会論文誌C*, Vol. 129, No. 1, pp.8-16 (2009).
- [3] A.M. Taylor, M. Blurton-Jones, S.W. Rhee, D.H. Cribbs, C.W. Cotman and N.L. Jeon, "A microfluidic culture platform for CNS axonal injury, regeneration and transport," *Nature Methods*, vol. 2, pp. 599-605 (2005)

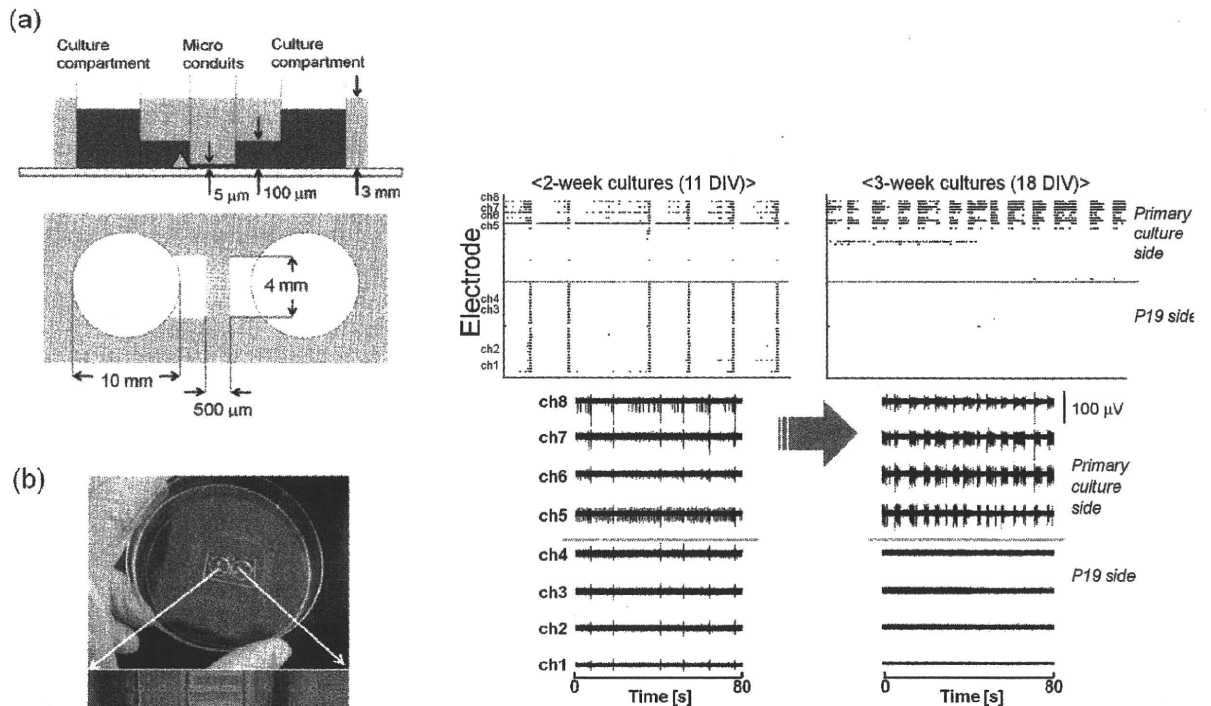


Fig. 2. Spontaneous electrical activity in the co-cultured networks.

Fig. 1. Design of the PDMS-based co-culture device. (a) Schematic outline of the device. (b) The PDMS device was attached to the MEA substrate. Scale bar, 500 μ m.

培養神経細胞を用いた刺激パターンの学習に関する研究

Learning of Stimulation Patterns using Cultured Nerve Cells

藤原 正浩¹, 芳賀 達也¹, 鈴木 隆文¹, 満淵 邦彦¹
Masahiro FUJIWARA¹, Tatsuya HAGA, Takafumi SUZUKI¹, Kunihiko MABUCHI¹

¹ 東京大学大学院情報理工学系研究科

¹ Graduate School of Information Science and Technology, University of Tokyo

Abstract It is important to obtain the knowledge of the property of the neuronal network to use the network as a information processor exceeding conventional computers in the performance. In this research, we examined the possibility of the pattern learning of the network by measuring the response from the cultured neuronal network stimulated spatial electrical patterns through the MED(multi-electrode dish). And we find that the temporal distribution of the firing rate vary distinctively when the network stimulated by the corresponding pattern. As a result, it was shown to be able to learn the single pattern by changing temporal distribution of the firing rate by the tetanic stimulation.

1. はじめに

実物の神経細胞を用いて生物のように柔軟性に富んだ情報処理を行うには、神経細胞ネットワークレベルでの脳機能の解明が不可欠である。また、それを新たな原理で動作するコンピュータとして利用するためには、神経細胞を同一の条件で培養し、経時変化や個体差によってその機能が変化らないように再現性を高く維持する必要がある。

現在のところ培養神経細胞ネットワークを情報処理装置に利用したものとしては、ロボットの行動制御に用いた例がある[1]。また、培養神経細胞ネットワークそのものの性質を解析した研究としては、ネットワークの一部の神経細胞に対し高頻度な電気刺激を与えることでシナプス可塑性に基づいたネットワーク結合の変化を促し、神経細胞間の信号伝達の長期増強(LTP; long-term potentiation)や長期抑圧(LTD; long-term depression)を誘導した例が報告されている[2, 3]。特に、文献[3]では空間的に分布したパターンの電気刺激によって神経細胞ネットワーク全体のLTPを誘導し、単一パターンの学習を行っている。しかし、LTPが誘導されるためには各ネットワーク固有の数以上の箇所を同時に刺激しなければならないなど制約もあり、また複数のパターンの学習が可能かどうかについても明らかではない。

本研究では神経細胞ネットワークに複数の刺激パターンを入力することでそのパターン間で差異が生じるかどうかについて検討し、それによって神経細胞ネットワークでパターン識別ができるかどうかについても検討を行うことを目的とした。具体的には、細胞外電極アレイであるMED(multi-electrode dish)を用いて、培養神経細胞ネットワークに複数の空間パターンをテタヌス刺激として印加し、その後に入力されたパターン刺激に対する応答を解析することで入力パターンによる差異が生じるかどうかについて検討を加えた。

2. 実験系

2.1 神経細胞の培養

神経細胞を培養する培養皿には、一辺 50 μm の正方形電極が底面に 8 行 8 列の合計 64 個配列されたアルファメッドサイエンティフィック社製の MED-P545A を用いた。電極中心間距離は 450 μm で、電極は白金黒により界面インピーダンスが調節されている。また、電極の配線は無色透明な導電

性物質であるITO(Indium Tin Oxide)によってチャンバー外部へ配線されており、顕微鏡による細胞の観察がしやすくなっている。MED は細胞を播種する前に、ガスバーナーで数分間加熱することで親水化し、ポリエチレンイミン(PEI)溶液とラミンによって、電極表面と細胞との親和性を高めるコーティングを行った。

神経細胞の培養には住友ベークライト社の神経細胞培養システムを用いた。神経細胞には培養の容易なラット大脳皮質細胞を用い、液体窒素下で保存していた組織片を分散してコーティングしたMEDに播種した。MEDに播種した細胞は内部を温度 37°C、湿度 100%、CO₂濃度 5%に保ったインキュベータ内で培養し、培養液は住友ベークライト社の神経細胞培養液 MB-X9501 を用い、培養期間中は 1 週間ごとに培地を半量ずつ交換した。

2.2 計測系と刺激系

構成した計測・刺激系のブロック図を Fig. 1 に示す。MED はアルファメッドサイエンティフィック社製の MED コネクタにネジで締結し、MED の配線と MED コネクタの端子をインピーダンスが十分低くなるように接触させた。MED コネクタの端子とバンドパスフィルタ内蔵のアンプ(日本光電社製 AB-611J)はシールドケーブルで接続した。ケーブルをアンプに接続する際、配線がケーブルのシールドで覆われてない区間があるため、その区間は別途シールドで覆い、すべてのシールドは計測系のグラウンドに接続した。アンプで増幅された信号はPC1に接続した12bitAD変換ボードでサンプリングし、パーソナルコンピュータPC1のハードディスクに収録した。PC1での信号のリアルタイムでの観察及び収録にはNational Instruments社のLabViewで作成したソフトウェアを用いた。

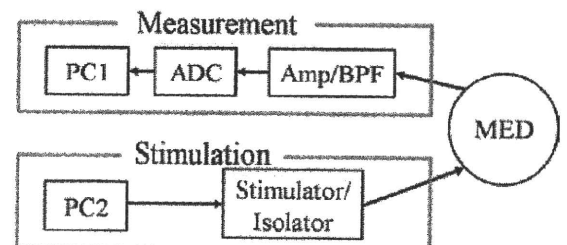


Fig. 1 Block diagram of the experimental setup
使用したMEDには8行8列の計64チャンネルの電極のほ

かに、同一底面上に4チャンネルの基準電極がある。これらの基準電極では細胞の活動とは独立した培地内の電位を計測できる。そのため、これらのうちの1チャンネルを基準電位としてMED電極の64チャンネル中の32チャンネルの電位との差動計測を行なった。

MED電極で神経細胞に電気刺激を印加する場合、MEDとアンプをつなぐケーブルのアンプ側を電気刺激装置(日本光電社製)に接続し、電気刺激を加える電極はアンプから切り離れた。これは、刺激装置につながっている電極で計測される信号に大きなノイズが重畳するのを避けるためである。刺激装置はアイソレータを内蔵したもので、電圧、パルス幅、周波数を調節できるが、複数のテタヌス刺激を周期的に加えるなどの変調は単体ではできないため、PC2から変調信号を刺激装置に印加した。PC2の変調信号もLabViewによって作成したソフトウェアで行なった。

信号計測中はコンタミネーションを防ぐため、MEDをクリーンベンチ内に設置し、ディッシュの上皿をMEDにかぶせた。また、培地の温度が低下すると細胞の活性に影響を及ぼすため、ガスバーナーによってクリーンベンチ内を保温した。ただし、CO₂濃度がインキュベータ内と異なることに対しては対策を施していないため、長時間にわたる計測ではないが、結果に影響した可能性はある。

3. パターン学習の実験方法

3.1 計測条件

使用したアンプは感度を10 μ V/V、バンドパスフィルタの低域遮断周波数を50Hz、高域遮断周波数を3kHzとした。また、AD変換ボードは分解能が12ビットのものを扱い、サンプリング周波数は25kHzとした。

MEDの電極にはFig. 2に示すチャンネル番号を付し、実験を通してそれぞれのMEDで各電極に対応するチャンネル番号と神経細胞の位置関係が変わらないようにした。アンプのチャンネル数の都合上、チャンネル0からチャンネル31までの32チャンネルを実験に使い、チャンネル9からチャンネル14とチャンネル17からチャンネル22までを計測のためのチャンネルとし、残りは刺激パターンを印加するための電極とした。

高頻度刺激を与えて学習させるパターンはFig. 2に示すように3種類のパターンで、パターン1はチャンネル0-7, 15, 23, 31、パターン2はチャンネル0, 8, 16, 24-31、パターン3はチャンネル0, 7, 8, 15, 16, 23, 24, 31で構成される。刺激電極はパターン1についてはチャンネル7を陰極とし、残りのチャンネルを陽極とした。またパターン2、パターン3についてはチャンネル24を陰極とし、残りのチャンネルを陽極とした。

MED電極にはFig. 3に示すテスト刺激(a)とテタヌス刺激(b)の2種類の電気刺激を印加した。テスト刺激は神経細胞の発火を促すことを目的とするもので、パルス幅0.2ms、振幅1Vのパルス状電圧刺激をFig. 2の刺激パターンを構成する電極に印加した。テスト刺激によって誘導される発火の時間分布が、テタヌス刺激前後でどのように変化するかを調べた。1度のテスト刺激入力に対して神経細胞の応答を計測することを1試行とし、それぞれの試行では刺激後およそ1-3秒程度の間応答発火が見られるため、各々の試行が独立とみなせるように5秒間隔でテスト刺激を印加した。テスト刺激を印加しなくとも十分に成長した培養大脳皮質細胞からはバースト状の自然発火が観察され、本実験ではそれが観察される細胞播種後71日目のMEDを用いたが、そのバースト発火は発火時間間隔が不規則であるために、タイミングを合わせて

それぞれのバースト発火の発火数分布を平均するなどの、定常的な性質を解析することが難しくなる。また応用面でも不規則な発火によって情報処理の結果を解析するのは再現性が低いためにテスト刺激を用いた。

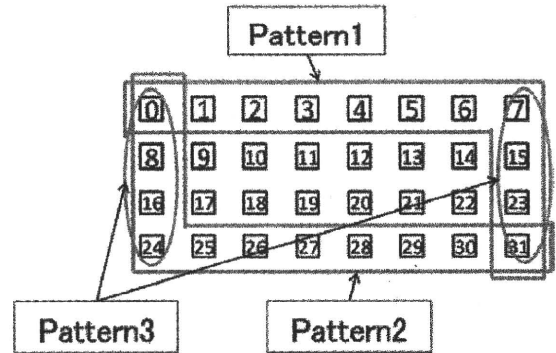


Fig. 2 Spatial Stimulation Patterns

テタヌス刺激は神経細胞間のシナプス伝達強度を変化させることを目的とするもので、パルス幅0.2ms、振幅1Vのパルス電圧を200Hzの周波数で80パルス印加するものを1列とした。これをFig. 2の各パターンに対し、2秒間隔で40列印加した。テタヌス刺激の印加は応答の計測を目的としないため記録は行っていないが、刺激中は計測電極にテタヌス刺激によるアーティファクトが重畳していることを確認した。

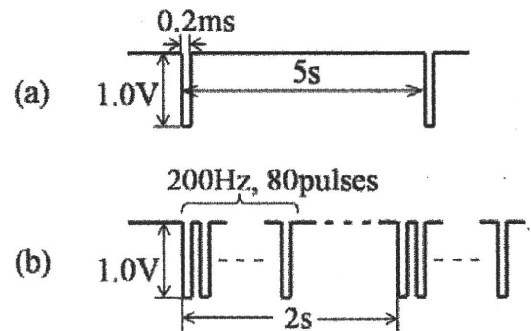


Fig. 3 Temporal Stimulation Patterns.

(a) Test stimulus (b) Tetanus stimulus

3.2 実験方法

複数の異なるパターンをテタヌス刺激として印加した場合に、それぞれのそれぞれでテスト刺激に対する平均発火率がどのように変化するか確認するため、以下のような手順の実験を行なった。

1. パターン1、パターン2、パターン3のそれぞれでテスト刺激を加え、応答を300秒間(60試行)計測する。
2. パターン1にテタヌス刺激を加える。
3. 手順1と同様に応答を計測する。
4. パターン1にテタヌス刺激を加える。
5. 手順1と同様に応答を計測する。
6. パターン2にテタヌス刺激を加える。
7. 手順1と同様に応答を計測する。

手順2, 4と手順6においてそれぞれパターン1とパターン2のテタヌス刺激を印加し、その後のテスト刺激に対する神経発火の時間分布がテタヌス刺激以前とどのように異なるかを確認する。

3.3 計測信号の解析

3.3.1 スパイク発火時刻の抽出

神経細胞の応答を解析する準備として、計測信号(原波形)から神経細胞のスパイク発火が生じている時刻を抽出する。以降の応答信号の解析には、このスパイク発火の時刻列を用いる。ただし原波形にはアーティファクトやノイズが重畳しているために、スパイクのピーク電圧によってはそれがノイズなのかスパイクなのかが見た目にはわかりづらい。また、全チャンネルのスパイク発火の総数も多いため、以下のようなアルゴリズムでスパイク発火時刻を抽出する。

まず、テスト刺激直後には刺激に由来するアーティファクトがそれぞれのチャンネルで30ms程度重畳するので、これを除去する。このアーティファクトの波形は底面電極のインピーダンスによって決まるため、各チャンネルの試行間で似た波形になる。したがって、各チャンネルごとにテスト刺激時刻を時刻原点にそろえて原波形を30msの間加算平均し、それを元の波形から差し引くことによって除去した。ただし、刺激後1msの間はアーティファクトの飽和によりスパイクの検出ができていないため、解析には用いないようにした。

次に、ノイズ標準偏差の5倍を閾値とし、絶対値がそれを超える振幅の観測時刻をスパイク発火の時刻として抽出した。また、典型的な活動電位の幅が2ms程度であることから、発火が観測された時刻からこの期間は閾値を超えてもスパイク発火とみなさないようにした。

3.3.2 発火頻度の評価

次に、印加する刺激パターンごとに応答に違いがあるかを確認するために、抽出したスパイク発火時刻列から発火頻度の時系列変化を評価する。応答観察に用いる発火頻度は、ネットワーク全体の定常的な変化を見るため、チャンネルごと、試行ごとに平均をとったものを用いる。まず、第*i*試行目の第*j*チャンネルにおける時刻*t*の発火率 $FR_j^{(i)}(t)$ は、時間を10msの小区間に分割し、各小区間で発火したスパイクの個数として定義する。そして、発火率 $FR_j^{(i)}(t)$ を*i, j*で平均したものを発火率 $AFR(t)$ とする:

$$AFR(t) = \frac{1}{NM} \sum_j \sum_i FR_j^{(i)}(t)$$

ここで*M, N*はそれぞれ試行回数、応答の計測されたチャンネル数である。

4. 結果

以上のような方法にしたがって行なった実験結果をFig. 4に示す。この実験では、パターン1に2回、パターン2に1回のテタヌス刺激を印加し、各テタヌス刺激を印加するごとにテスト刺激による応答を計測した。どの応答もテスト刺激後0.05秒から0.1秒程度で発火率が上がり、1秒程度でほとんど0になっている。

パターン1のテスト刺激に対する応答(b), (c)に注目すると、テタヌス刺激を印加するごとに0.1秒以降でピークとなる時刻が早くなっている。2回目のテタヌス刺激によるピーク時刻の変化は1回目のテタヌス刺激によるものよりも小さいが、テタヌス刺激前では0.4秒程度にあったピークの時刻が、2回のテタヌス刺激によって0.25秒まで移動している。それに対し、パターン2、パターン3についてはテタヌス刺激の印加ごとにピークとなる時刻が遅くなっている。

また、パターン2のテタヌス刺激を印加した場合(d)にも、パターン2の応答のピークが印加後に早くなっていることが観察される。つまり、ある電極パターンにテタヌス刺激を印加すると、そのパターンのテスト刺激を印加した時の発火率

が最大となる時刻が、より早い方へ遷移することがわかった。

しかし、パターン2のテタヌス刺激を印加する前後で比較してみると、パターン1のテスト刺激に対する応答のピーク時刻が遅れており、パターン1のテタヌス刺激を印加する0.4秒程度まで移動している。また、パターン3の応答はテタヌス刺激を印加していないにも関わらずピーク時刻が早くなっている。これは、パターン間の重なりと、電極と培養神経細胞ネットワークとの位置関係による応答変化と考えられる。

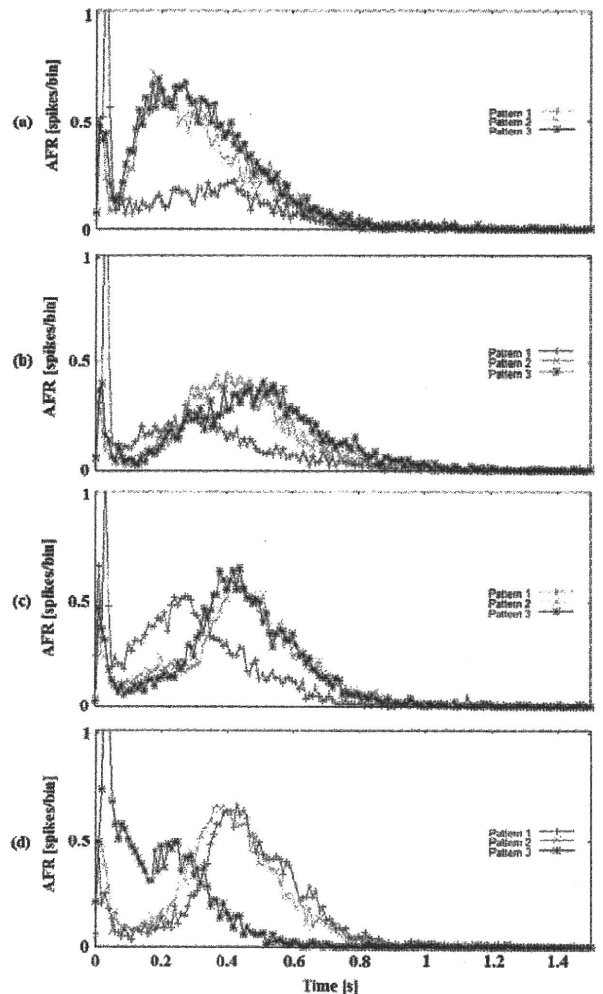


Fig. 4 Time-dependency of AFR

(a) AFR prior to any tetanus. (b) AFR after first pattern1 tetanus. (c) AFR after second pattern1 tetanus. (d) AFR after pattern2 tetanus.

5. 考察

先行研究[3]ではパターン1の形のテタヌス刺激により、パターン1のテスト刺激に対する発火頻度がパターン2のテスト刺激によるものより高くなることが確認されている。ただし、その発火頻度上昇は、パターンに含まれる刺激電極の個数がある値以上大きくなければならず、その値は当然培養されたそれぞれの神経細胞ネットワークに依存する。Fig. 4を見ると、テタヌス刺激を印加したパターンのみが発火頻度が高くなるという傾向はみられず、発火頻度上昇を引き起こすために十分な個数の電極を用いて刺激されていないことが分かる。

パターン1とパターン2は、それらを構成する電極にほとんど重なりがない。したがって、一方を刺激した場合に他方の電極上の神経細胞はあまり刺激されないことになる。このことが、一方にテタヌス刺激を印加したときにそのパターンのみ応答のピーク時刻が早まり、他方の応答のピーク時刻はあまり変化しないか遅くなることに関係していると思われる。また、パターン3はそれを構成する全ての電極がパターン1かパターン2のどちらかに含まれている。したがって、パターン1とパターン2のテタヌス刺激を印加したことで、結果的にパターン3を構成する電極上の神経細胞も刺激され、Fig. 4のようなパターン3の応答が得られたと考えられる。

発火率のピーク時刻をパターンごとに調節することによってパターン学習を行うと考えたとき、この実験結果からは複数のパターンを学習することは難しいことが示唆される。テタヌス刺激によってパターンごとに発火率のピーク時刻を調節したとき、それぞれのパターンはテスト刺激に対する応答としての発火率のピーク時刻に対応する。つまり学習後のパターン認識の段階では、あるパターンのテスト刺激が入力された時の応答として計測されるスパイク列の、単一または複数の試行から発火率 $FR_j^{(i)}(t)$, $AFR(t)$ を算出し、そのピーク時刻を学習したものと比較して入力パターンを推定することになる。しかし、本実験のパターン1とパターン2のように空間上で重なりがほとんどないようなパターンでも、複数のパターンのテタヌス刺激を印加した場合には直近の刺激パターンのピーク時刻が最も早くなるため、複数のパターンのピーク時刻をそれぞれ独立に調整することは難しい。さらに、パターン3のように他のパターンとの重なりがあるものはそれらのテタヌス刺激に大きく影響されるため、パターン認識の段階で誤ったパターンに認識される可能性が高くなる。

以上の実験から、培養神経細胞における単一パターン学習の方法として、発火率の時間変化で値がピークとなる時刻を用いたものの可能性が示唆された。テタヌス刺激を印加する回数、あるいは時間によって、このピーク時刻をある程度移動させることができ、これをパターン別に行うことでパターンと発火率のピーク時刻を対応させられることが期待できる。ただし、本研究ではある1つのパターンに対する発火率のピーク時刻のみを早くすることができており、単一パターンの学習には成功しているが、複数のパターンについてそれぞれ独立にピーク時刻を調整することはできていない。これは、パターン間の重なりと培養によって形成される神経ネットワークの位置関係によるものが大きく、どのような入力パターンの組み合わせであればピーク時刻を調整できるかは検証の余地があると思われる。また、この実験に用いたMEDが少ないため、培養細胞の個体差や電極間距離の違いなどが

あっても再現性があるか確認する必要がある。

また、本実験で用いた培養71日目の神経細胞ではFig. 4のように0.1秒程度で発火率が下がり再び上昇するという傾向が見られているが、培養30日目以内の比較的培養日数の短い神経細胞ネットワークでは発火率がほとんど単調に下がり、Fig. 4のような発火率分布にはならなかった。発火率分布が培養日数の経過とともに連続的に変化すると仮定すると、ほとんど単調に減少していた発火率分布が、培養日数の経過によって再度上昇する成分を含むようになる。本実験で観察されたピーク時刻の遷移は、その成分のピーク時刻に着目しているため、これをパターン認識に用いるためには少なくともFig. 4のような発火率分布が得られるほどに培養日数が経過したものをを用いる必要がある。

6. おわりに

MED上に培養したラット大脳皮質細胞に複数の空間パターンをテタヌス刺激として印加することで、神経細胞ネットワークのパターン学習の可能性を検討した。

テタヌス刺激によって発火頻度のピーク時刻が早まることが確認できたため、これによるパターン学習の可能性が示唆された。ある空間パターンでテタヌス刺激を印加するごとに、そのパターンのテスト刺激に対する発火率が最大となる時刻が早まる。これにより、学習の段階でテタヌス刺激を印加したパターンにおける発火率のピーク時刻と、新たに入力されたテスト刺激に対する応答から算出した発火率のピーク時刻を比較することで、単一パターンの認識を行えることを示せた。複数のパターンにテタヌス刺激を印加した場合には、直近に印加したパターンのピーク時刻が特に早まるため、これをそのままパターン認識に用いるのは難しいが、どのような入力パターンの組み合わせであればそれぞれのピーク時刻を個別に調整できるか検討することで、より再現性の高いパターン認識をできると思われる。

参考文献

- [1] 工藤卓, 徳田農, 清原藍, 細川千絵, 林勲, 田口隆久: "試験管"としてのニューロ・ロボット・ハイブリッドにおける *in vitro* 学習, BPES2008 第23回生体・生理工学シンポジウム論文集, 69/72 (2008)
- [2] Y. Jimbo, T. Tateno, and H. Robinson: Simultaneous induction of pathway-specific potentiation and depression in networks of cortical neurons, *Biophys. J.*, Vol. 76, 670/678 (1999)
- [3] M. E. Ruarro, P. Bonifazi, and V. Torre: Toward the Neurocomputer: Image Processing and Pattern Recognition With Neuronal Cultures, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol. 52, No.3, 371/383 (2005)

Multi-Electrode-Array Dish 上の培養神経細胞ネットワークの リアルタイム結合推定・可視化システムの構築 Development of Real-Time System for Estimation and Visualization of Neuronal Network Cultured on Multi-Electrode-Array Dish

芳賀 達也¹, 深山 理¹, 鈴木 隆文¹, 満淵 邦彦¹
Tatsuya HAGA¹, Osamu FUKAYAMA¹, Takafumi SUZUKI¹, Kunihiko MABUCHI¹

¹ 東京大学
¹ University of Tokyo

Abstract The brain is considered as the synaptic network of neurons, and information in the brain is processed mainly with neuronal interactions. Synaptic plasticity can change network dynamics which enables animal to memorize and adapt to environment. So there were many researches about neuronal interaction estimated from extracellular recording, so-called "Functional Connectivity". We have developed a method to estimate dynamical change of neuronal interaction from spontaneous firing extracellularly recorded. In this paper, we developed real-time system for estimation and visualization of neuronal network cultured on Multi-Electrode-Array Dish (MED) with the method. Under no stimulus, static neuronal network on MED was estimated with the system.

1. 序論

脳は神経細胞がシナプス結合でつながり合ったネットワークであり、シナプス結合の重みに変化(シナプス可塑性)ことにより生物の適応や学習が起こると考えられている。神経細胞のネットワークや可塑性に着目し、多点電極を配した培養皿(Multi-Electrode-Array Dish; MED)上に培養した神経細胞ネットワークから細胞外電位計測を行い、計測信号から細胞間の活動伝播の強さ(機能的結合強度; Functional Connectivity)を解析する研究がこれまで多く行われている[1],[2],[3],[4]。

私たちは過去に、時々刻々変化する結合強度に対し動的に各時刻推定を行う手法を提案した。提案手法の特徴として、各時刻の処理が独立かつ因果的であり、かつ実装上の工夫により高速に計算できることがあるため、計測に並行してリアルタイムに計測対象の結合構造および変化が推定可能と考えられる。

本稿ではリアルタイムに MED 上の神経細胞ネットワークの結合強度を推定・可視化するシステムの構築を行い、そのシステムによる推定結果を示す。

2. 手法

MED を通して観測される時刻 t 、神経細胞 i の発火系列(発火を 1, 非発火を 0 とした系列)を $x_t^{(i)}$ とし、この発火系列から確率モデルに基づいた結合強度の推定を行う。

2.1 確率モデルに基づくパラメータ推定

以下の仮定をおく。

1. 時刻 $t-\tau$ ($1 \leq \tau \leq T$) である神経細胞 m が発火したとき、時刻 t において神経細胞 n に $a_{\tau}^{(m,n,t)}$ の膜電位変化が起こる。

$a_{\tau}^{(m,n,t)}$ を細胞から細胞への結合強度とする。

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. 結合強度および静止膜電位 $\xi^{(n,t)}$ は時間変化する。

4. 膜電位には標準偏差 σ の正規雑音に加わっている。

5. 神経細胞 n の膜電位が $\theta^{(n,t)}$ を超えたとき発火する。

以上を考えると次の確率モデルが導出される。

$$P(x_t^{(n)}=1) = F\left(\sum_{n=1}^N \sum_{\tau=1}^T a_{\tau}^{(m,n,t)} x_{t-\tau}^{(m)} + \varepsilon^{(n,t)}\right) \quad (1)$$

ここで、 $\varepsilon^{(n,t)} = \xi^{(n,t)} - \theta^{(n,t)}$ であり、 $F(x)$ は平均 0, 標準偏差 σ の正規累積分布関数である。

確率モデルに基づき、各時刻観測されるデータを用いてパラメータを推定する。具体的には対数尤度関数

$$Q_t = \sum_{n=1}^N (x_t^{(n)} \log(P(x_t^{(n)}=1)) + (1 - x_t^{(n)}) \log(P(x_t^{(n)}=0))) \quad (2)$$

を考え、これを増加させるように勾配法を用いてパラメータ更新を行う。更新式は

$$a_{\tau}^{(m,n,t+1)} = a_{\tau}^{(m,n,t)} + K \frac{\partial Q_t}{\partial a_{\tau}^{(m,n,t)}} \quad \forall m, n, \tau \quad (3)$$

$$\varepsilon^{(n,t+1)} = \varepsilon^{(n,t)} + K \frac{\partial Q_t}{\partial \varepsilon^{(n,t)}} \quad \forall n \quad (4)$$

となる。ここで、 K は学習係数(任意定数)である。

2.2 リアルタイム推定の実装

2.1 の推定手法により、リアルタイムに MED 上の結合強度の推定およびネットワークの可視化を行うシステムの実装を行った。系はアルファメッドサイエンティフィック社製 64CH MED および 64CH Integrated Amp, National Instruments 社製 A/D ボード PCI-6071E 2 枚, PC (CPU: Intel Core i7 2.80GHz, Memory: 2GB) により構成される。C++ プログラムによりサンプリングレート 10000Hz, 64CH での計測信号から閾値によるスパイク検出により得た発火系列を用いて結合を推定し、ネットワーク可視化ソフト graphviz を用いて推定された MED 上のネットワークの可視化を行った。

ここで、更新式(3)・(4)をそのまま実装した場合、各時刻において全細胞組み合わせについての計算が行われる。だが、文献[4]でも触れられているとおり、 $x_t^{(n)}$ がほぼ 0 である性質(スパース性)により、 $x_t^{(n)}=1$ である n, t のみを記憶・演算す

ることで計算量およびメモリ消費を大幅に減少させることができる。また、メモリ上での演算に比べハードディスクへの書き込み速度は遅く、特に要素数の多い結合強度 $a_{\tau}^{(m,n,t)}$ の書き込みを計測と同じ頻度で行うことは難しい。だが今回推定される結合強度の更新頻度は各細胞の発火頻度と同じオーダーであるため、msオーダーの急激な変化は起こりえない。そこで今回は $a_{\tau}^{(m,n,t)}$ の出力レートを10Hzまで下げた。

以上の条件において構築したシステムにおいては計測と並行した実時間での処理が可能であった。

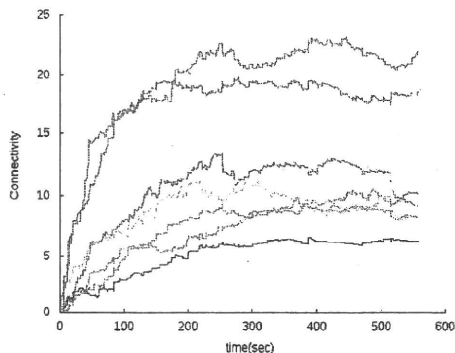


Fig. 1 Time change of estimated connectivity.

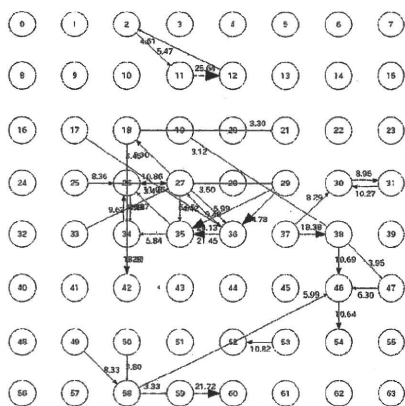


Fig. 2 Estimated network structure on MED.

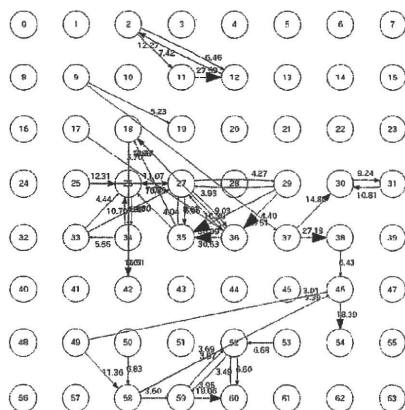


Fig. 3 Network structure estimated half a day after Fig. 2.

3. 実験

3.1 細胞培養・実験条件

ラット胎児(胎生17日)の脳皮質より得た神経細胞を分散したのち約 1.3×10^6 Cells/mm² の細胞密度でMEDに播種して培養を行い、MED上に神経細胞ネットワークを再構成させた。培養37日目の神経細胞ネットワークに対し、2.において構築したシステムによる結合推定(K=0.8, $\sigma=10$, T=4ms)を行った。

3.2 結果

システムはリアルタイムで動作し、強い結合がいくつか現れ、それらの結合強度はある値付近に収束した。図1にいくつかの結合強度の代表値 $\max_{\tau} a_{\tau}^{(m,n,t)}$ の経時変化を示す。

また、推定されたネットワーク構造を図2に示す。各ノードが計測電極、矢印が結合の向き、矢印先端の大きさ・付記した数字は結合強度の代表値 $\max_{\tau} a_{\tau}^{(m,n,t)}$ を示している。図3は図2の半日後に同条件で同じMEDから推定されたネットワーク構造である。2つのネットワークには共通した構造が見られる。

3.3 考察

本システムの大きな問題として、推定の時間遅れが大きいことがあり、はじめに推定が収束するまでには数分を要している。また、勾配法を用いていることで推定結果が局所解に陥る可能性がある。これらの問題から、パラメータ学習の手法にまだ大きな改善の余地があると考えられる。

4. 結論

リアルタイムで動作する神経細胞ネットワークの結合推定・可視化システムを構築することができ、実際にシステムを使用し推定を行った結果、定常なネットワークの存在を示唆する結果が得られた。今後の課題として、スパイクソーティングの実装や推定手法の改善などリアルタイム性を失わない範囲でのシステムの改良、結合推定に基づいた神経細胞へのフィードバック刺激入力による結合制御などリアルタイム性を生かした応用が挙げられる。

参考文献

- [1] 向井嘉崇, 椎名毅, 神保泰彦, “培養神経回路網の自発活動の長期的観測と解析”, 電子情報通信学会技術研究報告. OME, 有機エレクトロニクス, Vol. 100, No. 479, pp. 15-20(2000)
- [2] 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)
- [3] 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)
- [4] Okatan, Wilson, Brown, “Analysing functional connectivity using a network likelihood model of ensemble neural spiking activity”, Neural computation, Vol. 17, No. 9, pp. 1927-1961 (2005)

ESTIMATION OF FINGER JOINT ANGLE BASED ON SURFACE EMG SIGNALS AND ITS SIGNAL SOURCE RECOGNITION

YUKI HOASHI¹, YASUTAKA YAMAMIZU¹, NOZOMU ARAKI¹
YASUO KONISHI¹, KUNIHICO MABUCHI² AND HIROYUKI ISHIGAKI¹

¹Graduate School of Engineering
University of Hyogo
2167 Shosha, Himeji-shi, Hyogo, Japan
araki@eng.u-hyogo.ac.jp

²Graduate School of Information Science and Technology
University of Tokyo
7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo, Japan

Received March 2010; accepted May 2010

ABSTRACT. *In this study, we proposed a finger joint angle estimation method based on surface electromyography (EMG) signals and their source recognition. We have previously proposed a finger joint angle estimation method based on measured surface EMG signals and a linear model. However, there were some problems with that method. When we estimate 2 or more finger angles by this method simultaneously, the estimated angle of the inactive fingers is not accurate. This is caused by interference of surface EMG signals. To solve this problem, we added the source recognition of surface EMG signals by a Bayesian filter to our angle estimation method. To confirm the effectiveness of our proposed method, we carried out joint angle estimation experiments. In addition, we developed a myoelectric hand simulator that estimates the finger joint angle from surface EMG signals in real time using our proposed method.*

Keywords: Surface EMG signal, Myoelectric hand, Finger joint angle estimation, Bayesian filter

1. Introduction. A method for estimating the finger configuration or finger joint angle from electromyography (EMG) signals is important for controlling a myoelectric hand and is being actively researched. Because a myoelectric hand in practical use has few degrees of freedom, to realize a flexible myoelectric hand, it is necessary to accurately estimate the user's intention from EMG signals.

In previous researches, a method was developed for estimating finger posture from surface EMG signals using pattern recognition [1, 2]. A finger joint angle estimation method using surface EMG signals and neural networks has also been developed [3]. Thus, we have already proposed a finger joint angle estimation method using a histogram of surface EMG signals and a linear model [4]. However, there are some problems with our proposed method. In particular, when we estimate 2 or more finger angles simultaneously, the estimated angle of the inactive fingers is not accurate. This is caused by interference of surface EMG signals. To solve this problem, we added source recognition of surface EMG signals by Bayesian filter. Joint angle estimation experiments were carried out to confirm the effectiveness of our proposed method.

2. Surface EMG Signal Measurement Setup. First, we describe the surface EMG signal measurement setup for this study. The goal of our study was to estimate the angle of all finger joints from measured surface EMG signals and to control a myoelectric hand by estimated angle. In this study, we consider the estimation of 10 right-hand finger joints, as shown in Figure 1.

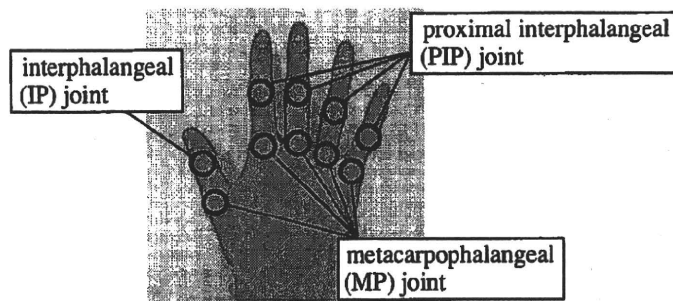


FIGURE 1. Finger joint positions estimated in this study

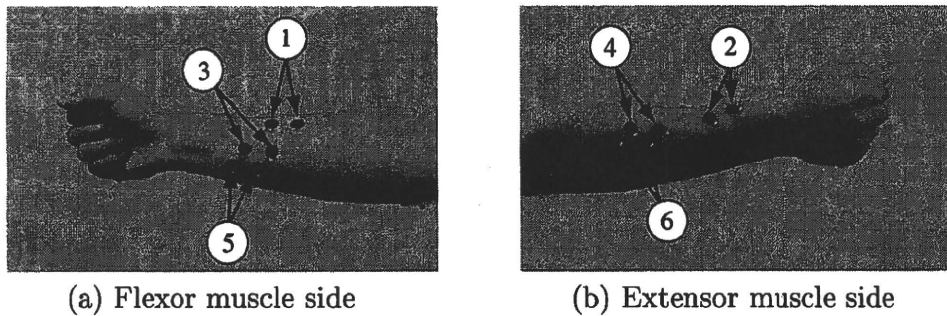


FIGURE 2. Electrode position for surface EMG signal measurement

To obtain the relational expression between these angles and surface EMG signals, the angles of the finger joints shown in Figure 1 are measured by rotary potentiometers. Since the finger joint angle is determined by a tension balance between a flexor muscle and an extensor muscle, surface EMG electrodes are applied to 6 positions (3 positions on the flexor muscle side and 3 positions on the extensor muscle side of the forearm) as shown in Figure 2. The sampling frequency of these surface EMG signals is 2000 Hz. Here, the surface EMG signals obtained by a pair of 1-2 electrodes are used for the thumb, 3-4 electrodes are used for the index and middle fingers and 5-6 electrodes are used for the medicinal and little finger, respectively. In the next section, we will describe how the finger joint angles are estimated from these surface EMG signals.

3. Finger Joint Angle Estimation Method Using Histogram of Surface EMG Signals. This section briefly explains our finger joint angle estimation method proposed in [4]. This method is based on a histogram of surface EMG signals. Figure 3(a) shows a sample of original surface EMG signal. In our method, we use only the negative extreme value of this signal as shown in Figure 3(b). This signal value is in the 0 V to -10 V range. We divide this range into 6 classes, and then calculate the frequency of each class using a 0.5 sec. record to create the histogram. Therefore, the obtained histogram has 6 elements X_1, \dots, X_6 that are frequencies of each class.

Now, it is assumed that $\{X_1^f(t), \dots, X_6^f(t)\}$ is the histogram calculated from the surface EMG signal of a flexor muscle and $\{X_1^e(t), \dots, X_6^e(t)\}$ is that of an extensor muscle at a time t . Since the finger joint angle is determined by tension balance between a flexor muscle and an extensor muscle, for a certain finger joint angle $\theta(t)$, we assume the following equation.

$$\theta(t) = \theta_0 + \sum_{i=1}^6 a_i X_i^f(t) + \sum_{j=1}^6 b_j X_j^e(t) \quad (1)$$

where a_i and b_j are weight coefficients and θ_0 is bias angle. These parameters can be obtained by linear least square method from prepared surface EMG signals and corresponding finger joint angle measured at the same time by a rotary potentiometer. In

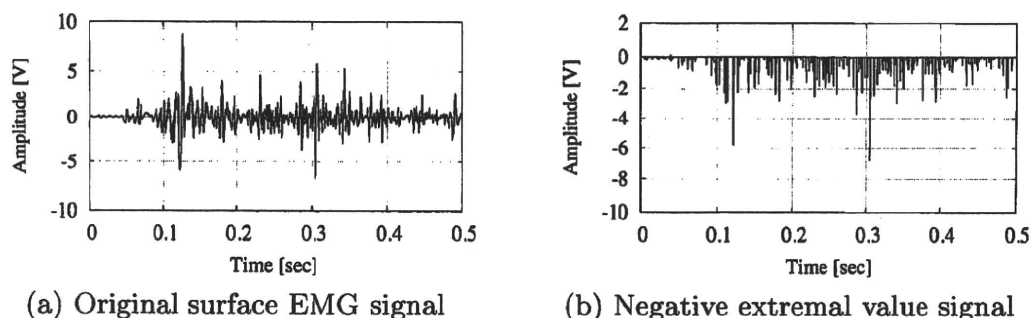


FIGURE 3. Sample of surface EMG signal and its negative extremal value signal

the estimation step, we calculate a finger joint angle estimator $\hat{\theta}(t)$ from (1) from the histogram of measured surface EMG signals.

To verify the performance of our proposed method, we carried out a finger joint angle estimation experiment. In this experiment, only the index finger was flexed and extended, while the other fingers were not moved. Figure 4 shows the joint angle estimation results for the index finger and middle finger. As shown in Figure 4(a), it is found that our proposed method closely estimates the finger joint angle for the index finger. However, from Figure 4(b), the estimation result diverges sharply from the measured angle of the middle finger, which was inactive. Moreover, all the estimation results are similar in shape. This result is caused by interference of surface EMG signals. To solve this problem, we added source recognition of surface EMG signals by Bayesian filter to our angle estimation method.

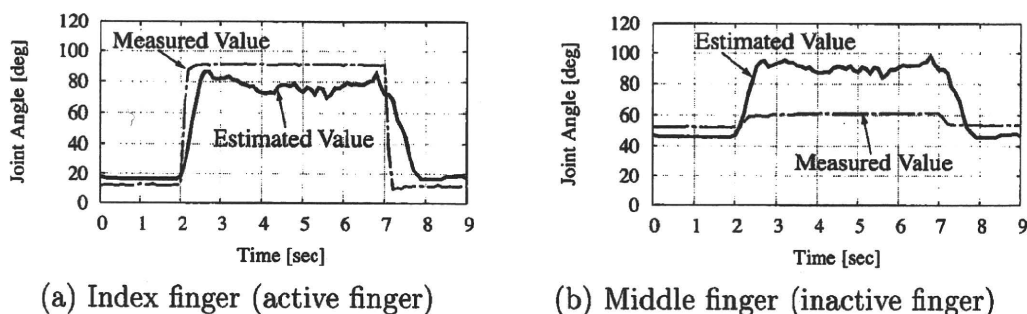


FIGURE 4. Estimation results of finger joint angle

4. Signal Source Recognition Using Bayesian Filter. The problem with our proposed method described in the previous section is caused by interference of surface EMG signals. If an active finger can be recognized from surface EMG signals, we can avoid these errors. Thus, this paper proposes a method for recognizing the signal source of surface EMG signals with a Bayesian filter. A Bayesian filter is a statistical classifier method based on Bayes' theorem and it is known to have high recognition performance [5].

Here, we distinguish the signal source using the fact that the amplitude spectrum of a surface EMG signal has a different distribution for different finger motion. First, the amplitude spectrum of the surface EMG signal is calculated from a 0.3 sec. record. Figure 5(a) shows an example of the amplitude spectrum of a surface EMG signal. Second, as shown in Figure 5(b), we divide the frequency of the obtained amplitude spectrum into 20 regions and calculate the average magnitude in each region. Then, the magnitude of the reduced spectrum is divided into 10 regions. Consequently, the amplitude spectrum of the surface EMG signal is considered as a 10×20 matrix M . The element of M has a value of 0 or 1. It is 1 if the reduced spectrum is in the divided region indicated by the gray area of Figure 5(b).

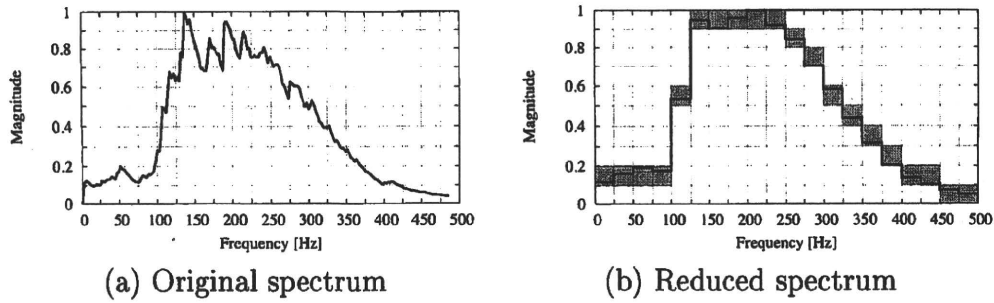


FIGURE 5. Sample of amplitude spectrum of a surface EMG signal

Next, we explain how to create a database to recognize the signal source. Because we measure the surface EMG signals at 6 positions as described in Section 2, it is necessary to calculate 6 amplitude spectrums for one finger motion. Now, for a certain finger motion, we assume that an N -training set of 6 amplitude spectrums are given as a 10×20 matrix M_i^j , $i = 1, \dots, N$, $j = 1, \dots, 6$. Then, the hash table for a certain finger motion H_j , $j = 1, \dots, 6$ is constructed as follows:

$$H_j = \frac{1}{N} \sum_{i=0}^N M_i^j, \quad j = 1, \dots, 6. \tag{2}$$

The element of this hash table H_j has range $[0, 1]$. Therefore, the hash table H_j can be considered as a probability map of the amplitude spectrum of surface EMG signals for a certain finger motion. Then, the set of 6 hash tables $D = \{H_1, \dots, H_6\}$ is the database of a certain finger motion. In this study, we created 7 databases D_k , $k = 0, \dots, 6$ to distinguish the signal source. The subscript k of D_k is the database index and the corresponding finger motion is shown in Table 1.

TABLE 1. Database index and corresponding finger motion

Database index k	Corresponding finger motion
0	hyposthenia state
1	flex action of thumb
2	flex action of index finger
3	flex action of middle finger
4	flex action of medicinal finger
5	flex action of little finger
6	flex action of all fingers

It is assumed that the set of amplitude spectrum matrices $Z = \{M^1, \dots, M^6\}$ of the surface EMG signals for unknown finger motion are obtained. Then, the probability $P(k|Z)$ that given data Z are the data of the k -th database and the corresponding finger motion is calculated using Bayes' combining probability as follows:

$$P(k|Z) = \frac{\prod_{i=1}^{120} \gamma(i)}{\prod_{i=1}^{120} \gamma(i) + \prod_{i=1}^{120} (1 - \gamma(i))} \tag{3}$$

where the probability $\gamma(i)$ is obtained by the following algorithm:

[Calculate the probability $\gamma(k)$]

For database $D_k = \{H_1, \dots, H_6\}$ and given data $Z = \{M^1, \dots, M^6\}$, $\gamma(i)$ is calculated as:

$i = 1$ (Initialize)

For $j = 1 : 6$,

```

For a = 1 : 10,
    For b = 1 : 20,
        If  $M^j(a, b) == 1$ , Then  $\gamma(i) = H_j(a, b)$ ,  $i = i + 1$ .
    End For
End For
End For.
    
```

As a result, the finger corresponding to the database that has the highest probability (3) becomes the signal source recognition result.

In the next section, we will describe the modified joint angle estimation method using this signal source recognition result.

5. Modified Finger Joint Angle Estimation Method. To solve the problem of our estimation method mentioned in Section 3, we propose a modified method using the signal source recognition result described in the previous section. In this method, we use the following equation instead of (1) to estimate the finger joint angle:

$$\theta(t) = \theta_0 + W \left\{ \sum_{i=1}^6 a_i X_i^f(t) + \sum_{j=1}^6 b_j X_j^e(t) \right\} \quad (4)$$

where, a_i and b_i are weight coefficients and θ_0 is bias angle. These parameters can be obtained in a similar manner to (1). Moreover, the parameter W in (4) is a weight coefficient that reflects the activity of the subject finger and has a value between 0 and 1. If $W = 0$, it means that the estimated finger is inactive. Conversely, if $W = 1$, it means that the estimated finger is active. Therefore, using the value of W , we reflect the signal source recognition result in the finger joint angle estimation. In this paper, we calculate W using the least square method with respect to each motion of Table 1.

To confirm the effectiveness of the proposed method, we carried out the same finger joint angle estimation experiment as in Section 3. Here, we compared the proposed method with our previous estimation method using (1) as a conventional method. Figure 6 shows the joint angle estimation results for index finger and middle finger. In this figure, the solid line and dotted line denote the proposed method and the conventional method result, respectively. From Figure 6(a), it is found that both of the index finger (active finger) joint angle estimation results well converge to the measurement angle. As shown in Figure 6(b), the middle finger (inactive finger) joint angle estimation result of the proposed method is improved over that of the conventional method. This result indicates that our proposed method is effective for estimating 2 or more finger angles at same time.

Finally, we developed a myoelectric hand simulator that estimates the finger joint angle from surface EMG signals in real time using our proposed method. Figure 7 shows the myoelectric hand simulator and its estimation results. As shown, our simulator well

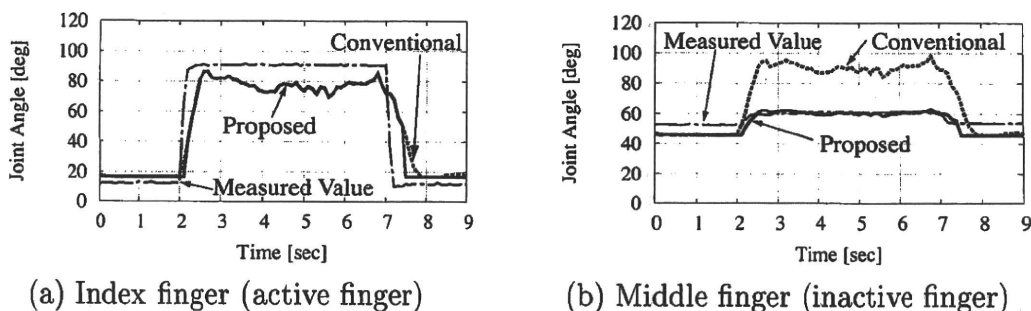


FIGURE 6. Estimation results of finger joint angle using proposed method and conventional method

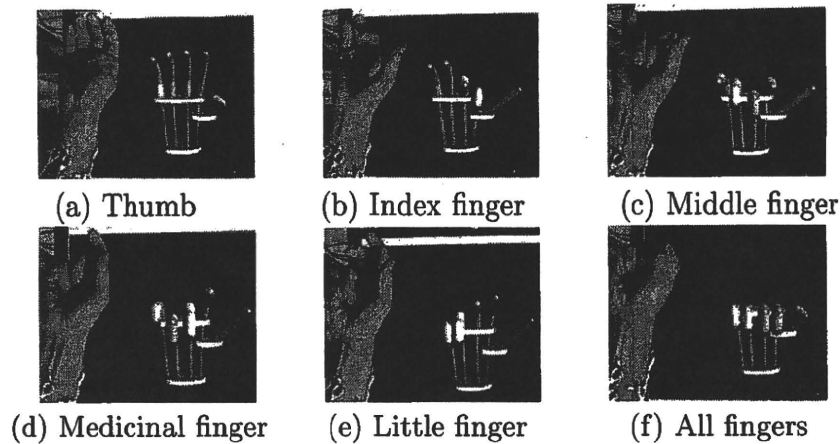


FIGURE 7. Motion of myoelectric hand simulator which implements our estimation algorithm

reproduces a user's hand motion from surface EMG signals. Our future work is to apply our proposed method to a real myoelectric hand.

6. Conclusion. This paper proposed a finger joint angle estimation method for a myoelectric hand using surface EMG signals and its source recognition results. The experimental results indicated that our proposed method is effective for estimating 2 or more finger angles at the same time. Moreover, we developed a myoelectric hand simulator by implementing our estimation algorithm and confirmed that our proposed method is technically feasible for application to a real myoelectric hand system.

REFERENCES

- [1] H. Yokoi, W. Yu and K. Naruse, An autonomous adaptive control for the EMG prosthetic hand, *PO Academy Journal*, vol.10, no.1, pp.9-12, 2003.
- [2] A. D. C. Chan and K. B. Englehart, Continuous myoelectric control for powered prostheses using hidden Markov models, *IEEE Trans. on Biomedical Engineering*, vol.52, no.1, pp.121-124, 2005.
- [3] A. Katayama, S. Dok and Y. Koike, Estimation of finger posture with EMG signals for human interface, *Technical Report of IEICE*, vol.106, no.611, pp.7-12, 2007.
- [4] Y. Yamamizu, N. Araki, Y. Konishi, K. Mabuchi and H. Ishigaki, Knuckle angle estimation method using histogram of surface EMG signals, *Proc. of the Symposium on Biological and Physiological Engineering*, vol.23, pp.183-184, 2008.
- [5] N. Araki, Y. Konishi and H. Ishigaki, A statistical approach for handwritten character recognition using Bayesian filter, *International Journal of Innovative Computing, Information and Control*, vol.5, no.11(B), pp.4033-4040, 2009.

3-8-EP9

運動機能と感覚機能を備えた義手開発のための末梢神経再生型電極に関する研究 - 免疫組織学的検討

Immunohistological Evaluation of Regenerative Electrodes in Peripheral Nerves

¹国立病院機構村山医療センター整形外科, ²東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学専攻, ³東京大学生産技術研究所マイクロメカトロニクス国際研究センター, ⁴慶應義塾大学整形外科

○斎藤 治和¹, 満洲 邦彦², 鈴木 隆文²,

五條 理保³, 池上 博泰⁴

【はじめに】近年、義手の情報ラインと神経系を直接インターフェイスデバイスで接続し、双方向のやりとりを行うことで、義手に運動及び感覚機能を付与する試みが行われている。このインターフェイス手法としては、中枢神経系に直接針電極を刺入する方法が現在主に試みられているが、刺入による中枢神経への損傷の可能性など安全性の問題がある。これに対し、末梢神経に装着する電極は安全性や信号の解釈が容易であるといった利点があるが、組織への固定性の問題がある。この問題を解決しうる電極として、切断した神経束の断端間に多数の電極孔の開いた電極をおき、孔を通過した再生軸索の活動電位を計測するという神経再生型電極が提唱されているが、その構造と神経再生についての詳細な研究は少ない。今回は孔の大きさを変えた神経再生型電極をラット坐骨神経に設置し、再生軸索の状態を免疫組織学的に検討したので報告を行う。

【材料および方法】ラット坐骨神経を大腿中央部で切断し、神経再生型電極を設置した。電極は孔の直径が20 μ (20群), 40 μ (40群), 60 μ (60群), 80 μ (80群), 100 μ (100群) のものを用意した。2カ月後に電極を含む坐骨神経を取り出して固定後、凍結切片を作成し、抗ニューロフィラメント抗体および抗MBP (myelin basic protein) 抗体による染色を行った。

【結果および考察】電極の遠位側の抗ニューロフィラメント抗体による染色では、20群は再生軸索が少なく、40以上の群では多数の再生軸索が認められた。抗MBP抗体による染色では、20群では陽性部分は小さく散在しており、40以上の群では比較的大きな陽性部分が多く見られた。これらから、40以上の群では、大径有髄線維も電極を通過して再生しているものと考えられた。

3-8-EP10

生体内におけるp38 MAPKを介した神経再生制御機構 第2報

Involvement of p38 MAPK in Regulatory Mechanism of Nerve Regeneration

¹埼玉医科大学整形外科, ²埼玉医科大学分子生物学講座, ³三重大学医学部生化学講座

○加藤 直樹¹, 松本 征仁², 緒方 正人³, 禾 泰壽², 織田 弘美¹

セリン/スレオニンリン酸化酵素であるp38 MAPKは炎症の制御分子として、また、炎症治療の分子標的として注目されている。神経損傷後の炎症はWallerian変性とその後神経再生において重要な意味をもつことから、これまで神経再生過程におけるp38の生理的機能について報告がなされてきた。しかしながらp38 α 遺伝子破壊マウスが胚性致死をきたすため、これらの報告はp38の阻害剤を投与することで検討されており、阻害剤の特異性の問題から相反する結果が導かれている。そこで我々はp38 α の基質結合領域に点突然変異を導入したノックインマウス (semマウス) を作製し、p38のシグナル伝達を阻害することで、神経再生が組織学的にも機能的にも遅延すること、炎症性サイトカインであるTNF α の発現パターンに違いが生じることを見出し、昨年の本学会で報告した。

今回、こうした神経再生遅延の機序について、より詳細に検討する目的で、圧挫損傷後早期の再生軸索や軸索を取り囲むSchwann細胞、およびRhoAおよびMAGを抑制することで神経再生に促進的に作用するとされるIL-1 β の発現などについて評価を行った。その結果、圧挫損傷部遠位の神経内に侵入する軸索の密度は、野生型と比較してsemマウスは有意差をもって低かった。また成熟Schwann細胞のマーカーであるS-100蛋白の発現、およびIL-1 β の発現も野生型と比較してsemマウスで低下していた。

今回の個体レベルの解析結果から、semマウスにおける神経再生の遅延は、損傷後の軸索伸長の低下と、再生を支持するSchwann細胞の反応の違いにより生じていると思われる。神経再生において、p38 MAPK経路は単独で、他のシグナル伝達経路によって代償されない生理的機能を持つことが示され、p38 MAPK経路を明らかにすることで神経再生を制御できる可能性があると考えられた。

2-Pg-5

S100-GFP トランスジェニックラットを用いた骨格筋における神経筋接合部・神経分枝の形態学的検討 —速筋, 遅筋での新たな形態的違いの発見—

加藤 征樹¹ 菊池 元史² 中間 季雄³ 星野 雄一¹
屋代 隆²

【目的】速筋の神経筋接合部は遅筋と比較しその構造がより複雑で大きく、さらに遅筋では神経終末の被覆の割合が多いとされ、その構造的差異は機能上の合目的な差と考えられる。筋タイプにより神経筋接合部の形態に違いがあるのであれば、神経分枝の走行パターンにも違いがあることが推測される。S100bのプロモーター下流にGFP遺伝子を組み込んだDNAを導入したS100-GFPトランスジェニックラット(Itakura et al. 2007)はシュワン細胞などS100bを発現している細胞の視覚化に有用である。本研究は、S100b-GFPトランスジェニックラットを用いてシュワン細胞を視認し、神経筋接合部と神経分枝に関して新たな観点から検討を行うことを目的とした。

【材料と方法】約3カ月齢のS100b-GFPラット5匹を使用した。ヒラメ筋、総趾伸筋、前脛骨筋、腓腹筋内側・外側頭をそれぞれ取り出しホルマリン固定した。ショ糖処理を行い凍結マイクロームを用いて切片を作成後、共焦点レーザー顕微鏡・蛍光顕微鏡で観察した。神経分枝の走行パターンは、フラクタル次元により評価・解析した。

【結果と考察】神経分枝の走行は速筋で有意にフラクタル次元が大きく、より緊密な構造を呈していた。最終分枝から神経筋接合部までの実測距離でも速筋がより短かつ直線的に走行していた。速筋と遅筋では収縮速度やインパルスのパターンが異なることは合目的な違いと考えられているが、これを裏付ける結果が得られた。これは神経筋接合部も含め筋の収縮様式を達成するため形態的に適応した結果と考えられた。また遅筋の大多数の神経筋接合部において神経筋接合部の外周を城壁のように取り巻くS100陽性細胞が確認されたが速筋では確認できなかった。近年、神経筋接合部での新たな細胞の存在が報告されているが、この細胞とは分布や形態が異なりかつS100陰性と報告されているので、全く別の細胞であると推測される。本細胞の詳細は不明だが、筋の収縮様式にも関与する神経筋接合部の細胞である可能性が推察され、現在検討中である。

【まとめ】速筋と遅筋では神経分枝の走行パターンが異なった。遅筋において神経筋接合部でこれまでに報告のない形態が確認された。

¹自治医大整形外科 ²自治医大解剖学教室 ³下都賀総合病院整形

2-Pg-6

運動および感覚機能を備えた義手開発のための末梢神経再生型電極に関する研究 —至適電極孔径の検討—

斎藤 治和¹ 満洲 邦彦² 鈴木 隆文² 五條 理保²
池上 博泰³

【目的】近年、義手の情報ラインと神経系を直接インターフェイスデバイスで接続し、双方向のやりとりを行うことで、義手に運動および感覚機能を付与する試みが行われている。このインターフェイス手法としては、中枢神経系に直接針電極を刺入する方法が現在主に試みられているが、刺入による中枢神経への損傷の可能性など安全性の問題がある。これに対し、末梢神経に装着する電極は安全性や信号の解釈が容易であるといった利点があるが、組織への固定性の問題がある。この問題を解決しうる電極として、切断した神経束の断端間に多数の電極孔の開いた電極をおき、孔を通過した再生軸索の活動電位を計測するという神経再生型電極が提唱されているが、その構造と神経再生についての詳細な研究は少ない。今回は孔の大きさを変えた神経再生型電極をラット坐骨神経に設置し、再生軸索の状態を免疫組織学的に検討したので報告を行う。

【方法】ラット坐骨神経を大腿中央部で切断し、神経再生型電極を設置した。電極は孔の直径が20 μ (20群)、40 μ (40群)、60 μ (60群)、80 μ (80群)、100 μ (100群)のものを用意した。2カ月後に電極を含む坐骨神経を取り出して固定後、凍結切片を作成し、抗ニューロフィラメント抗体および抗MBP (Myelin Basic Protein)抗体による染色を行った。

【結果】電極の遠位側の抗ニューロフィラメント抗体による染色では、20群は再生軸索が少なく、40以上の群では多数の再生軸索が認められた。抗MBP抗体による染色では、20群では陽性部分は小さく散在しており、40以上の群では比較的大きな陽性部分が多く見られた。

【考察および結論】末梢神経を構成する神経線維は、その伝導速度と径により分類がなされている。A線維は小径および大径有髄線維であり、B線維は有髄自律神経線維または節前線維、C線維は小径無髄線維である。A線維の直径は2-12 μ m、B線維は3 μ m未満、C線維は0.3-1.3 μ mといわれている (Ganong1995)。抗ニューロフィラメント抗体染色による結果から、いずれの孔径の電極においても再生軸索が孔を通過して再生していることが示された。さらに、抗MBP抗体染色による結果から、孔の直径が20 μ mの場合は、A線維の中でも比較的細いA γ 、A δ 線維は通過している可能性はあるものの、太いA α 、A β 線維は通過できておらず、直径が40 μ m以上では、A α 、A β 線維も通過しているものと考えられた。

¹国立病院機構村山医療センター整形外科 ²東京大学大学院情報理工学系研究科システム情報学専攻 ³慶應義塾大学整形外科

演題1：速順応型機械受容ユニットへの微小刺激により生成される振動感覚の周波数特性に関する基礎的研究

Basic study of spectral characteristics of vibration sensation evoked by microstimulation of rapidly adaptive mechanoreceptor units

抄録：触圧覚呈示機能を備えた義手を実現するための基礎的研究として、我々は機械受容ユニットへの微小電気刺激によって生成される感覚に関する研究を行っている。今回は、昨年度に引き続いて、速順応型機械受容ユニットを対象とした研究について報告する。実験ではまず正中神経へとタングステン微小針電極を経皮的に刺入し、速順応型機械受容ユニットを探索、同定した後に、生成される振動感覚の周波数を、反対側の手に実際に機械的振動刺激を加えて比較することにより求めた。結果としては微小電気刺激のパルス周波数と生成振動感覚の振動周波数は概ね一致するケースと、後者が前者の半分程度まで小さくなるケースとがあった。これらの結果、および機序に関する考察について報告する。

施設名：

- 1) 東京大学大学院情報理工学系研究科
- 2) 済生会横浜市東部病院 脳神経センター
- 1) Graduate School of Information Science and Technology, The University of Tokyo
- 2) Brain Nerve Center, Saiseikai Yokohama-city Tobu Hospital

演者名：

- 鈴木隆文¹⁾, 矢口博彬¹⁾, 伊藤孝佑¹⁾, 満洲邦彦¹⁾, 國本雅也²⁾
○Takafumi Suzuki¹⁾, Hiroaki Yaguchi¹⁾, Kosuke Ito¹⁾, Kunihiro Mabuchi¹⁾, Masanari Kunimoto²⁾

連絡先：鈴木隆文

〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1、
東京大学 情報理工学系研究科 システム情報学専攻
電話番号：03-5841-6880、Fax 番号：03-5841-6882、
E-mail: t.suzuki@i.u-tokyo.ac.jp

演題 3 : 末梢神経障害による感覚障害に対するマイクロスティミュレーション法を用いた
感覚補填・感覚強化システムモデルの構築

A model of the sensory prosthetic and enhancement system for sensory
disturbances due to peripheral neural disorders using micro-stimulation method

抄録：末梢神経傷害による感覚機能障害に対して、マイクロスティミュレーション法を用いて感覚機能の補填・強化を行なうシステムのモデルの構築を行なった。まず、正中神経にマイクロニューログラム針電極を刺入して SA-I single unit に当てる。次に、その投射野の指に、外部からの圧刺激が直接指の圧受容器に影響しない様に硬いプラスチックの指サックを被せる。さらにその上に圧センサを装着してこれをバーで押し、検出された圧を電気刺激パルス列に変換し、マイクロスティミュレーション法を用いて unit の電気刺激を行ない、圧感覚を発生させた。その結果、検出した圧を電気刺激パルス列の繰り返し頻度に変換する係数を調節する事により、加えた圧と同じ強度の圧感覚を発生させる事が出来、又、弱い圧を強い圧として強化・提示する事も可能である事を示した。なお、電気刺激により発生する圧の強さの評価は、被験者が反対の手で圧センサを押し込み提示するという方法を用いた。

施設名：

1. 電気通信大学知能機械工学専攻
 2. 済生会横浜市東部病院脳神経センター
 3. 東京大学情報理工学系研究科システム情報学専攻
1. Department of Mechanical Engineering and Intelligent Systems, The University of Electro-Communications
 2. Brain Nerve Center, Saiseikai Yokohamashi Tobu Hospital
 3. Department of Information Physics and Computing, Graduate school of Information Science and Technology, The University of Tokyo

演者名：

新納弘崇¹、下条 誠¹、國本雅也²、鈴木隆文³、石川正俊³、矢口博彬³、満洲邦彦³
Hirotaka Niiro¹, Makoto Shimojo¹, Masanari Kunimoto², Takafumi Suzuki³, Masatoshi
Ishikawa³, Hiroaki Yaguchi³, Kunihiko Mabuchi³

連絡先：満洲邦彦 (corresponding author)

〒113-8656 東京都文京区本郷 7-3-1、
東京大学 情報理工学系研究科 システム情報学専攻
電話番号：03-5841-6880、Fax 番号：03-5841-6882、
E-mail: Kunihiko_Mabuchi@ipc.i.u-tokyo.ac.jp

感覚神経系障害患者のための ウェアラブル感覚補填・感覚強化システムの開発 ～マイクロスティミュレーション法による触圧覚生成と感覚増強～

Wearable sensory prosthetic system for patients with sensory disturbance -generation of somatic sensation and its enhancement using microstimulation method-

○新納 弘崇 (電通大) 國本 雅也 (済生会横浜市東部病院) 鈴木 隆文 (東京大) 満洲 邦彦 (東京大) 下条 誠 (電通大)

Hirotaka Niiro(UEC), Masanari Kunimoto(Saiseikai Hosp.), Takafumi Suzuki(Univ. of Tokyo),
Kunihiko Mabuchi(Univ. of Tokyo), Makoto Shimojo(UEC)

Abstract— In this study, we attempted to develop a prototype of a wearable sensory prosthetic system with which patients suffering from peripheral sensory disturbance will be able to feel somatic sensations as if they were touching an object with their healthy and intact hand. The system consists of finger sacs and palm patch equipped with flexible pressure sensors, and micro-electrical stimulation of the sensory nerve fibers was used in order to evoke somatic sensations. The results showed that the system worked satisfactorily, and it is demonstrated that the system will be able to compensate or even enhance sensory function of the patients with sensory neuropathy.

Key Words: sensory feedback, intelligent prosthetic hand, work support, microstimulation method

1. 緒言

病気や事故によって感覚を失ってしまった場合、日常生活に多大な支障をきたす事になる。そこで、障害によって失った感覚を回復するための一つの方法として、感覚神経電気刺激を利用した感覚を提示する研究がなされるようになった [1]。

実際の生体では、感覚受容器が受けた刺激を活動電位のパルス列に変換し、中枢に伝達されることで感覚を得る [2]。そして、刺激を伝える感覚神経線維に同じ活動電位列を発生させることができれば、実際に刺激を受けた時と同じ感覚を得ることができる。

そこで本研究では、触覚センサの情報をマイクロスティミュレーション法を用いて、感覚神経線維により触覚として提示するシステムの開発を目的とした。

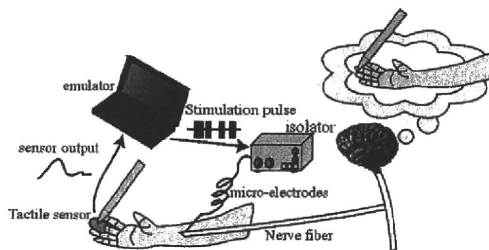


Fig.1 The concept of the proposed system.

2. 実験システム

実験システムの全体構成を図2に示す。システムは触覚センシングと神経線維インターフェースの2つに分かれている。前者は被験者の指先に装着した触覚センサの情報をコンピュータに取り込み、後者は取り込んだ情報に応じて神経線維を刺激するパルス列を出力する。以下各実験システムについて説明する。

2.1 触覚センサ

触覚センサとして FingerTPS(PPS社製)を用いた。センサは人の手に装着し、接触力を検出するフレキシ

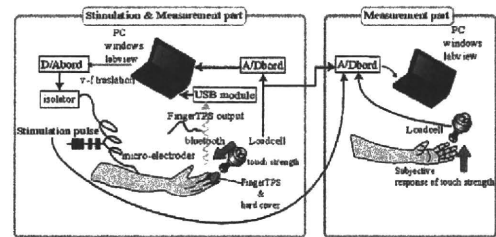


Fig.2 The experimental arrangement.

ブルな静電容量型圧力センサである。出力は Bluetooth 通信で PC に接続され、40Hz で更新する。

2.2 神経線維インターフェース

触覚センサからの情報を基にマイクロスティミュレーション法を用いて感覚を被験者に提示する。マイクロスティミュレーション法とは、経皮的に微小針電極を感覚神経線維の中に刺入し、電気刺激パルス列を入力することで、人工感覚を生成する手法である。

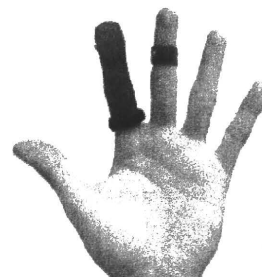


Fig.3 The Finger TPS system.

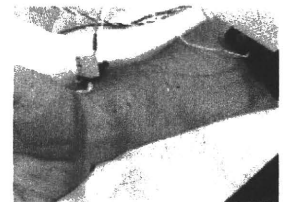


Fig.4 The manner in which microstimulation is performed.