

神経工学の潮流

正員 高橋 宏知^{*a)} 正員 神保 泰彦^{**}

Trends in Neural Engineering

Hirokazu Takahashi^{*a)}, Member, Yasuhiko Jimbo^{**}, Member

(2012年12月15日受付)

The Moore's law predicting that the number of transistors on integrated circuits doubles every 18 months since 1970's has been underlying industrial innovation. In the field of neuroscience, a similar trend is observed for the number of simultaneously recorded neuronal cells, which has doubled every 7.4 years since the late 1950's. Neural engineering has emerged from the confluence of these two technological trends and has significantly promoted a number of progresses in our understanding of the brain and the developments of neural prosthesis. In the present paper, we introduce how innovative instrumentation engineering and information technologies have brought benefits in our daily physiological experiments and sometimes led to major discoveries in a discontinuous manner. Furthermore, increasing capacity to acquire and analyze massive data may change not only treatments of neural data, but also scientific approaches in neuroscience.

キーワード：脳，ニューロン，同期，微小電極アレイ，機械学習

Keywords：Brain, neuron, synchronization, microelectrode array, machine learning

1. はじめに

ムーアの法則⁽¹⁾にしたがって、コンピュータの中央演算素子 (CPU) のトランジスタ数は、1.5年ごとに倍増し、1970年初頭には数1000だったが、現在では 10^9 に達している。このトレンドに沿って、コンピュータの性能も記憶容量も向上を続けている。それに伴い、実験で取得できるデータ量は増え、計算負荷が大きい解析手法も容易に利用できるようになった。

さらに、神経科学業界には、もう一つのムーアの法則がある。1950年代末に、数個の神経細胞の活動が同時計測されて以来、脳内で同時計測された神経細胞数は、7.4年ごとに倍増している⁽²⁾。現在では、数100個の神経細胞の活動が多点同時計測されている。このトレンドに沿えば、2025年には同時計測できる細胞数は 10^3 個になる。さらに、2230年には 10^{11} 個、すなわち、脳内の全神経細胞から同時計測

できるようになる。

神経工学の研究者は、脳の計測技術を開発すること、脳の計算原理を解明すること、さらにそれを工学的に応用することを目指している。その研究の発展は、上記の二つのムーアの法則に支えられてきた。計測技術や解析技術の革新は、新たな研究の潮流を作り、新たな知見を創出してきた。本稿では、それらの具体例を示しながら、神経工学分野のこれまでと現状の研究を紹介し、今後を展望する。

2. 神経活動の計測

〈2・1〉 *in vivo* 実験 著者らは、図1のような電極アレイを用いて、動物の脳内の神経活動を計測してきた。図1(a)の電極は、直径100 μm のタングステン棒の先端を電解研磨で直径数 μm まで鋭くし、先端以外を高分子材料で絶縁している⁽³⁾。先端付近の神経細胞が発生する活動電位を計測できる。このようなタングステン微小電極は、1950年代に確立され⁽⁴⁾、現在でも愛用されている。また、タングステン細線をテフロンで被覆した直径50 μm 程度のワイヤでも代用できる (California Fine Wire, Co.)。図1(b)の電極アレイは、4 mm 角に 10×10 の計測点を有する。脳表から0.5 mm から1.5 mm の深さに刺入し、神経活動を計測する。電極材料はシリコンで、先端部には白金がめっきされている。この電極アレイは、1988年にNormannらによりユタ大学で開発されたため⁽⁵⁾、通称、ユタ電極と呼ばれている。現在、ユタ電極は

a) Correspondence to: Hirokazu Takahashi. E-mail: takahashi@i.u-tokyo.ac.jp

* 東京大学先端科学技術研究センター
〒153-8904 東京都目黒区駒場 4-6-1
Research Center for Advanced Science and Technology, The University of Tokyo

** 東京大学大学院新領域創成科学研究科
〒277-8561 千葉県柏市柏の葉 5-1-5
Graduate School of Frontier Sciences, the University of Tokyo
5-1-5, Kashiwa-no-ha, Kashiwa-shi, Chiba 277-8561, Japan

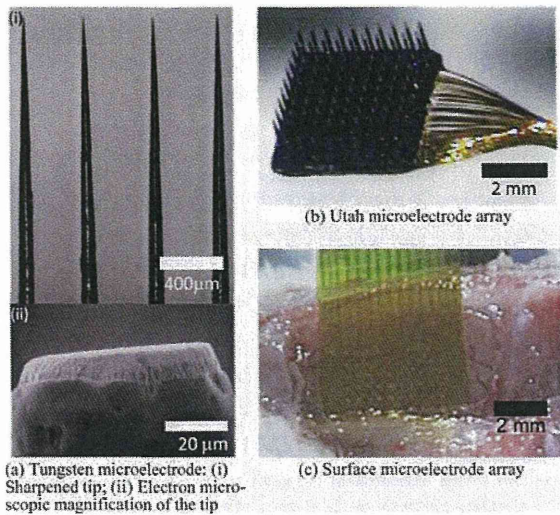
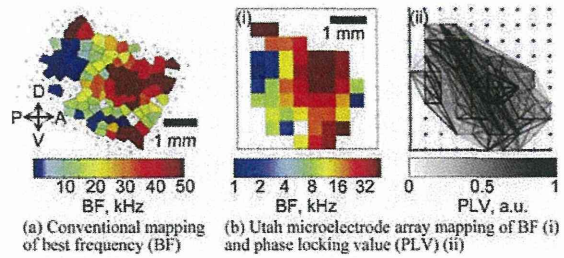


Fig. 1. Microelectrode arrays for in vivo experiments

Blackrock Microsystems 社から市販されている。図 1(c)の表面電極アレイは、5 mm×4 mm に 10×7 の計測点を有し、大脳皮質表面で神経活動を計測する⁽⁶⁾。同アレイは、柔軟なポリミド基板に、電極パターンが金で形成されている。このような表面電極アレイも、現在では、Neuronexus 社や Multichannel Systems 社などから市販されている。これらの他にも、先端を細くしたシリコン基板上に複数の計測点を有する刺入型電極アレイ (通称、シリコンプローブ) も 1990 年代にミシガン大学を中心に開発され⁽⁷⁾、現在では各社から市販されている。このように、微小電極アレイは、神経活動パターンを取得する重要な実験ツールとして確立されている⁽⁸⁾。

脳の神経反応は部位ごとに異なる。特に大脳皮質では、神経反応を系統的に精査すると機能マップが得られることがある。このような機能マップは、学習や経験に応じて、ダイナミックに変化することも知られている。したがって、機能マップは、大脳皮質の情報処理において、主要な役割を担っていると考えられ、その発見以来、神経科学分野では盛んに研究されてきた⁽⁹⁾。例えば、聴皮質には周波数マップがあり、部位ごとに選択的に反応する音の周波数が系統的に変化する。図 2(a)は、ラットの聴皮質において、伝統的なタングステン微小電極で得た周波数マップである⁽¹⁰⁾。聴皮質の中心部は高い周波数に、周辺部は低い周波数に選択的に反応する。このようなマップを得るために、典型的な実験では、一匹のラットの聴皮質から約 150 点で計測する。1 計測点につき約 30 分の計測時間を要するので、4 計測点からなる電極アレイを用いても、このマップを得るために約 20 時間も要する。一方、図 2(b) (i) に示したラット聴皮質の周波数マップはユタ電極による計測で得た。同図は、図 2(a) のマッピングより粗いが、一般的な周波数マップの特徴は認められる。なお、この図を得るために要する実験時間は 30 分である。また、100 点の計測点で同時計測できると、図 2(b) (ii) のように、各計測点間の同期パターンから、



Abbreviations: A, anterior; P, posterior; D, dorsal; V, ventral.

Fig. 2. Neural mapping in the auditory cortex

機能ネットワークを同定できるようになる。著者らの最近の研究から、この機能ネットワークには、刺激音の情報、学習・経験内容など、様々な情報が反映されていることがわかってきた⁽¹¹⁾⁽¹²⁾。

微小電極アレイを利用すれば、機能マップも同期活動も、従来手法より格段に容易に精査できるようになった。しかし、これらの重要性は、微小電極アレイが普及する前から認識されてきた。その点では、革命的な知見が得られたわけではない。革命的な知見を創出する実験手法は、従来手法とは、異なるスケールの現象を調べる。

例えば、現在、急速に普及している実験手法として、二光子励起顕微鏡が挙げられる⁽¹³⁾。この方法を用いると、組織表面から数百 μm の深さで顕微鏡像を低侵襲で取得できる。蛍光イメージングと併用すれば、*in vivo* の大脳皮質において、神経細胞のカルシウム応答を計測できる。この手法の画期的な点は、視野内の全神経細胞のカルシウム応答を多点同時計測できることである。最近の研究では、二光子励起蛍光顕微鏡によるカルシウムイメージングで、聴皮質内の隣接するニューロンの応答特性が調べられている⁽¹⁴⁾⁽¹⁵⁾。その結果、隣接する神経細胞でも、反応特性は互いに全く異なることが明らかにされた。つまり、聴皮質の周波数マップの秩序は、500 μm 程度の計測スケールでは存在するが、単一細胞レベルのマイクロな視点では存在しない。さらに、音への反応特性に基づいて、解析対象とした全神経細胞を分類したところ、音に反応しない細胞が 25%、音に反応はするものの選択性がない細胞が 33% に上った。逆に、明確な周波数選択性を示す細胞は 25% 程度しかなかった。これまで、微小電極で調べられ、情報処理の基盤と信じられてきた周波数マップは、25% と少数派のニューロンのスパースな活動に基づいていたわけである。このような事実が明らかになると、すべての神経細胞からの同時計測がますます重要になる。

このように、従来よりも高精度に大量のデータを取得できるようになったこともあり、最近の研究は、神経細胞の豊かな多様性に注目することが多い⁽¹⁶⁾⁽¹⁷⁾。それに伴い、神経活動の同期現象ではなく、「非同期現象」も、注目を集めるようになってきた。神経細胞が互いに非同期化すれば、各細胞の多様化が助長されるはずである⁽¹⁸⁾⁽¹⁹⁾。

計測スケールが変われば、神経活動を解析する視点も一変する。様々な計測スケールの現象を統合するために、今

後の計測技術の革新に期待したい。

〈2・2〉 *in vitro* 実験 脳内に電極アレイを埋め込もうとすると、様々な問題が生じる。例えば、電極数が増えると、配線の取り回しが難しい。また、電極の埋植時には、頭蓋骨や脳の複雑な構造を考慮しなければならない。当然のことながら、電極刺入時に組織を傷つけると、神経反応そのものが消失する。その点、*in vitro* 実験は、シャーレに電極アレイを作りこむことで、これらの問題の多くを解決できる。したがって、*in vitro* 実験で用いられる微小電極アレイの計測点の数は、*in vivo* 実験のムーアの法則より 10 年程度先行している。

動物の胎児の脳を取り出し、酵素で分解した後、シャーレ上に播種・培養すると、神経細胞は自己組織的にネットワークを形成する。このような神経細胞の初代分散培養は、神経回路形成の研究モデルとして注目されてきた⁽²⁰⁾⁽²¹⁾。また、電気刺激を繰り返し与えると、神経活動パターンを変化させることから、脳の可塑性のモデルとしても利用されてきた^{(22)~(24)}。これらの現象は、図 3(a)のように、微小電極アレイ上で神経細胞を培養することにより、比較的容易に精査できる。なお、このような実験手法は、1980 年代にはすでに確立されている⁽²⁵⁾⁽²⁶⁾。

最近の著者らの研究では、図 3(b)のように、微小電極アレイ上での生体機能の再構成を試みている⁽²⁷⁾。例えば、交感神経細胞と心筋細胞を共培養すれば、心拍のリズム制御系を *in vitro* 再構成できる。この実験では、交感神経細胞が心筋細胞へシナプス結合を形成すること、さらに、交感神経



Fig. 3. Microelectrode arrays for *in vitro* experiments

細胞への電気刺激により、心拍が制御できることが確認されている。このような *in vitro* 再構成技術は、生命現象の理解に資するばかりでなく、創薬の研究ツールとしても期待できる。

ただし、微小電極アレイは実験手法として普及しているが、一般的には、その空間分解能は数 100 μm 程度と必ずしも高くない。図 3(a)から推測できるように、一つの電極は複数の細胞の活動を計測し得るし、電極から離れた細胞は計測対象とはならない。

伝統的な微小電極アレイに代わる新しい計測技術として、CMOS 技術を利用した高密度電極アレイが、国内外の複数の研究グループで開発されている⁽²⁸⁾⁽²⁹⁾。図 4(a)は、Hierlemann らにより開発された CMOS 電極アレイである⁽²⁹⁾。同アレイは、1.8 mm 角の計測領域に、11,011 個の電極を有する。各電極の直径は 7 μm、電極間距離は 17 μm、サンプリング周波数は 20 kHz と、計測の時空間分解能は極めて高い。神経細胞の直径は数 10 μm と CMOS アレイの電極間距離と同等なため、図 4(b)のように、複数の電極で 1 細胞を計測できる⁽³⁰⁾。さらに、図 4(c)に示すように、活動電位が軸索を伝播する様子も可視化できる⁽³¹⁾。このように、計測の空間分解能が一桁向上すると、従来手法とは全く異質の情報が見られるようになる。

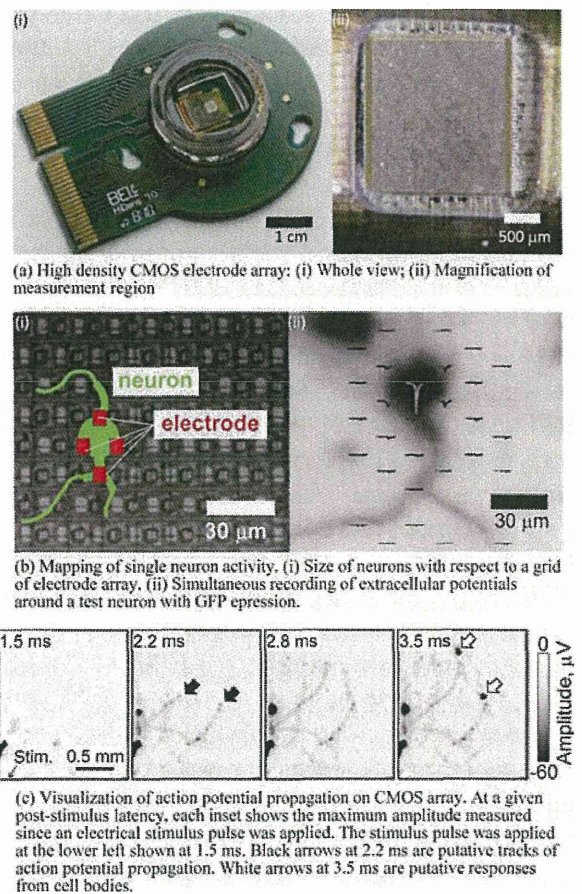


Fig. 4. CMOS array for neural recording *in vitro*

ところで、最近の研究では、軸索は活動電位を伝える単純なケーブルではなく、情報処理に本質的な影響を与えていることが示唆されている。例えば、活動電位の振幅は、シナプス伝達物質の放出量に関連がある^{(32)~(34)}。また、活動電位の伝播速度が可塑的に変化することも報告されている⁽³⁵⁾。これらの研究を発展させるためにも、超高時空間分解能を有する計測手段は、今後、ますます重要になる。

3. 神経活動パターンの解析

〈3・1〉 神経活動のデコーディング 脳活動から情報を抽出できれば、工学的に応用できる可能性がある。例えば、意志情報を抽出できれば、重篤な運動障害を負う身体障害者のコミュニケーション手段になり得る。このようなシステムは、ブレイン-コンピュータ・インターフェイス (BCI)、あるいは、ブレイン-マシン・インターフェイス (BMI) と呼ばれている⁽³⁶⁾⁽³⁷⁾。また、被験者の嗜好性や意志決定プロセスを抽出できれば、マーケティングにも利用できる。このような試みをニューロ・マーケティングと呼ぶ⁽³⁸⁾。

BCIでは、神経活動から信頼できる特徴量を選択することが肝要である。研究初期のBCIでは、頭皮上の脳波から、頭皮上緩電位 (slow cortical potential; SCP)、事象関連電位 (P300)、感覚野・運動野上の脳波律動などが用いられた。しかし、脳波は、神経細胞集団の同期した活動であり、その計測は、信号源の大脳皮質から1 cm程度離れた頭皮上の電極によるため、得られる情報量は限られている。典型的な脳波BCIでは、最大で一分間に25 bits (25個の二択の質問に対する回答に相当する) 程度の情報を得られる⁽³⁷⁾。なお、25 bitの情報量は、文字にするとアルファベットで5文字程度に相当する。

BCI/BMI用の信号源として、100個程度の計測点からなる微小電極アレイを用いると、得られる情報量は飛躍的に増える。例えば、運動野に電極アレイを刺入し、100個程度の神経細胞から多点同時計測すると、手の軌道を予測できるようになる⁽³⁹⁾。この原理を利用すれば、思考でロボットハンドを動かせる。思考によるロボット制御は、2000年にサルの実験での成功例が報告された後、2006年には脊損による四肢麻痺患者での臨床例が報告されている⁽⁴⁰⁾。情報の抽出方法を工夫すると、1秒当たり最大6.5 bitsもの情報量を抽出できるようになる。これは、1分当たり、約80文字、または、約15個の英単語に相当する⁽⁴¹⁾。

BCI/BMIシステムの性能は、神経活動からの情報抽出方法、すなわち、デコーディングに依存する。研究初期のBCIでは、神経活動から抽出する特徴量の次元数も小さく、したがって、そのデコーディングに要する計算量も少なかった。しかし、計測点数の増加に伴い、複雑な時空間的な神経活動パターンが解析対象になった。その結果、デコーディングに用いる入力データの特徴量の次元数が増え、計算量も膨大になる。また、高次元の入力データでは、全要素が、デコーディングに有用であるとは限らない。抽出したい情報とは関連ない神経活動も含まれている。これらも考慮し

てしまうと、デコーディング性能はむしろ低下してしまう。この問題は、データの次元数が増えるほど深刻になる。デコーディング性能の向上は、計算機の性能と解析アルゴリズムの発展に懸かっている。計算機の性能は、冒頭で述べたように、ムーアの法則に沿って発展している。また、機械学習分野でも、最近のアルゴリズムの進化は目覚ましい。

特に、神経活動のデコーディングでは、fMRIによる研究が注目されている⁽⁴²⁾。これらの研究では、視覚情報を提示したときの脳活動を fMRI で取得し、脳活動から提示画像を再構成する。fMRIのデータは、脳を数ミリ角の微小領域 (ボクセル) に分割し、ボクセルごとに神経活動に伴うボールド信号 (血流の局所変化) を得る。一般的な fMRI 計測では、10万ボクセル程度のボールド信号を約1 Hzで取得する。したがって、デコーディングに用いる入力データは、極めて高次元になり、どのボクセルに所望の情報が含まれているか検討もつかない。そのような fMRI の高次元の入力データに対して、宮脇らは、スパースロジスティック回帰 (SLR) という識別器を用いて、10×10のピクセルからなる提示画像を再構成することに成功した⁽⁴³⁾。なお、SLRは、入力ベクトルのうち、学習への寄与が少ない要素にかかる重みをゼロにすることで、入力ベクトルを次元圧縮する⁽⁴⁴⁾。

〈3・2〉 データ駆動型の研究手法 SLRによるデコーディングの画期的な特長は、高次元入力データにおいて、識別精度という客観的な指標を用いて、情報の在り処を同定できることである。例えば、提示画像が幾何学模様の場合、SLRは、識別に有用な要素として、低次視覚野のボクセルを選択する。このような識別器を利用することにより、新しい研究スタイルが確立できる可能性がある⁽⁴⁵⁾。伝統的な神経科学は仮説立証を基本としており、研究者が緻密な仮説を立て、それを実験データで立証してきた。今後は、膨大なデータを取得した後、データから仮説を導き、それを再検証する手法もあり得る。

ただし、当然のことながら、データ駆動型の仮説導出には問題点もある。デコーディングは、神経集団の活動に含まれる情報を明示的に扱える一方で、その表現方法に生理学的な裏付けはない。一例として、著者らがユタ電極で得た聴皮質の神経活動パターンのデコーディングを考えよう⁽¹²⁾。図5(a)(i)は、16 kHzの純音と40 kHzの純音を提示したときに、high- γ 帯域 (60~80 Hz) の局所電場電位のパワーの空間分布を示す。周波数ごとに明確なパターンの差異が認められる。このパターンを入力ベクトルとすると、次元数は100 (電極数) になる。一方、図5(b)(i)は、位相同期パターンである。位相同期は、全計測点ペアで定義されるため、その次元数は4950 ($=_{100}C_2$) になる。一見したところ、周波数に依存したパターンの差異は明確ではない。これらをSLRでデコーディングしてみると、パワーの分布パターンでも、位相同期パターンでも、同程度に高い識別精度を得られる。特徴量をパワーとした場合、SLRにおいて、16 kHzの識別に貢献する計測点は、図5(a)(ii)に示すように、周波数マップ上の16 kHzに選択的に反応する部位の周辺だった。これ

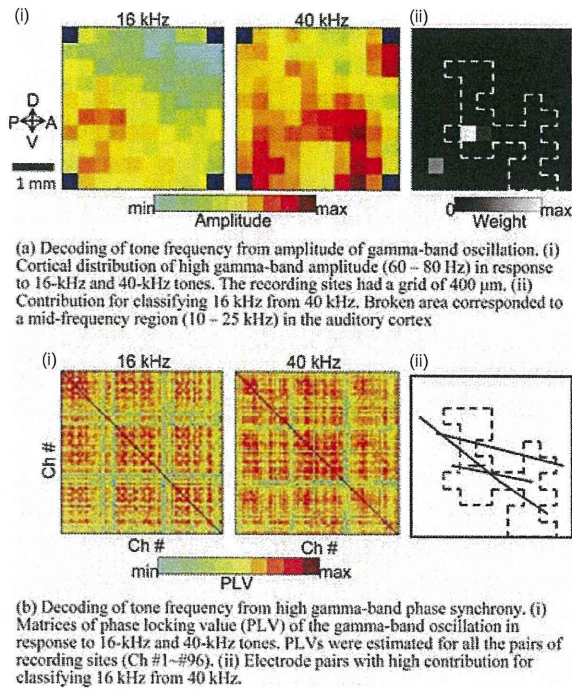


Fig. 5. Neural decoding in the auditory cortex

は、生理学的に妥当な結果である。しかし、位相同期の場合、図 5(b) (ii) に示すように、そのような明確な対応関係は認められなかった。この結果から、位相同期による情報表現は、空間的に分散していると議論できる。その一方で、ここで抽出された位相同期パターンが、生理学的なメカニズムを反映していない可能性もある。情報表現が高い冗長性を示す場合、SLR で選択された要素を精査する価値があるかは疑わしい。例えば、顔の情報は、顔情報に選択的な高次視覚野以外からも得られる⁽⁴⁶⁾。したがって、データ駆動型の仮説導出には、データに含まれる本質的な情報を対象とすることが重要である。

デコーディングによるデータ駆動型の研究手法と相補的なアプローチとして、エンコーディングモデルによる視覚情報の再構成も試みられている⁽⁴⁷⁾。デコーディングでは、神経活動パターンから視覚情報を予測する識別器を構成した。エンコーディングモデルは、その逆で、視覚情報から神経活動パターンを予測する。例えば、提示画像を多数の空間フィルタで分解し、その出力の線形和で fMRI の各ボクセルのボード信号を予測できると仮定する。このエンコーディングモデルが適切に脳の情報処理を反映していれば、任意の画像に対して、脳活動を予測できるようになる。

西本らは、このアプローチにより、fMRI で計測した神経活動から動画の再構成を報告している⁽⁴⁸⁾。この研究のエンコーディングモデルには、6000 以上の非線形な時空間フィルタ (運動エネルギーフィルタ) を用いている。エンコーディングモデルは、2 時間の動画とそれらを提示したときに fMRI で計測した脳活動から構築される。さらに、インターネットから 1 秒の動画クリップを 1800 万個も集め、各クリ

ップで誘発される脳活動をエンコーディングモデルで予測し、それらのデータベースを構築する。このデータベースが視覚情報の再構成に用いられる。すなわち、未知の動画を提示したときに得られた脳活動は、データベース内の脳活動と比較される。その結果、類似した脳活動が検索され、それに対応する動画が出力される。エンコーディングモデルやデータベースの構築といった研究アプローチは、高性能な計算機なしには実現できないことは言うまでもない。

4. おわりに

本稿では、神経科学・神経工学分野の研究が、二つのムーアの法則に沿った技術革新により、どのように変遷してきたかを解説した。革新的な実験手法は、従来手法とは質の異なるデータを提供し、しばしば、不連続的に革命的な知見を創出する。また、技術革新は、研究のアプローチも変容させる。今後も、工学と情報技術の発展が、脳の計算原理の解明とその応用に欠かせないことは疑いない。これらの先端技術を十分に活かすためには、常識に囚われない工学系研究者の豊かな発想が重要である。

文 献

- (1) G. E. Moore : "Cramming more components onto integrated circuits", *Electronics*, Vol.38 (1965)
- (2) I. H. Stevenson and K. P. Kording : "How advances in neural recording affect data analysis", *Nature Neuroscience*, Vol.14, No.2, pp.139-142 (2011)
- (3) H. Takahashi, J. Suzurikawa, M. Nakao, F. Mase, and K. Kaga : "Easy-to-prepare assembly array of tungsten microelectrodes", *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, Vol.52, No.5, pp.952-956 (2005)
- (4) D. H. Hubel : "Tungsten Microelectrode for Recording from Single Units", *Science*, Vol.125, No.3247, pp.549-550 (1957)
- (5) P. K. Campbell, K. E. Jones, R. J. Huber, K. W. Horch, and R. A. Normann : "A silicon-based, three-dimensional neural interface: manufacturing processes for an intracortical electrode array", *IEEE Trans. Biomedical Engineering*, Vol.38, No.8, pp.758-768 (1991)
- (6) H. Takahashi, T. Ejiri, M. Nakao, N. Nakamura, K. Kaga, and T. Herve : "Microelectrode array on folding polyimide ribbon for epidural mapping of functional evoked potentials", *IEEE Trans. Biomedical Engineering*, Vol.50, No.4, pp.510-516 (2003)
- (7) A. C. Hoogerwerf and K. D. Wise : "A 3-dimensional microelectrode array for chronic neural recording", *IEEE Trans. Biomedical Engineering*, Vol.41, No.12, pp.1136-1146 (1994)
- (8) K. D. Wise : "Integrated sensors, MEMS, and microsystems: Reflections on a fantastic voyage", *Sensors and Actuators A: Physical*, Vol.136, No.1, pp.39-50 (2007)
- (9) V. B. Mountcastle : "The columnar organization of the neocortex", *Brain* Vol.120, No.4, pp.701-722 (1997)
- (10) H. Takahashi, R. Yokota, A. Funamizu, H. Kose, and R. Kanzaki : "Learning-stage-dependent, field-specific, map plasticity in the rat auditory cortex during appetitive operant conditioning", *Neuroscience*, Vol.199, pp.243-258 (2011)
- (11) 野田貴大・神崎亮平・高橋宏知 : 「聴覚野における音脈分凝に関わる機能的ネットワークの下部構造」, *電学論 C*, Vol.132, No.7, pp.1079-1087 (2012-7)
- (12) 磯口知世・阿久津完・野田貴大・神崎亮平・高橋宏知 : 「聴皮質の定常的な神経活動における音情報のデコーディング」, *電学論 C*, Vol.132, No.10, pp.1608-1616 (2012-10)
- (13) K. Svoboda and R. Yasuda : "Principles of two-photon excitation microscopy and its applications to neuroscience", *Neuron*, Vol.50, No.6, pp.823-839 (2006)
- (14) S. Bandyopadhyay, S. A. Shamma, and P. O. Kanold : "Dichotomy of

- functional organization in the mouse auditory cortex", *Nature Neuroscience*, Vol.13, No.3, pp.361-368 (2010)
- (15) G. Rothschild, I. Nelken, and A. Mizrahi : "Functional organization and population dynamics in the mouse primary auditory cortex", *Nature Neuroscience*, Vol.13, No.3, pp.353-360 (2010)
- (16) 高橋宏知 : 「脳の情報表現における集団のなかの個性」, *日本神経回路学会誌*, Vol.17, No.3, pp.112-123 (2010)
- (17) R. Yokota, K. Aihara, R. Kanzaki, and H. Takahashi : "Tonotopic-column-dependent variability of neural encoding in the auditory cortex of rats", *Neuroscience*, Vol.223, pp.377-387 (2012)
- (18) A. S. Ecker, P. Berens, G. A. Keliris, M. Bethge, N. K. Logothetis, and A. S. Tolias : "Decorrelated neuronal firing in cortical microcircuits", *Science*, Vol.327, No.584, pp.584-587 (2010)
- (19) A. Renart, J. de la Rocha, P. Bartho, L. Hollender, N. Parga, A. Reyes, and K. D. Harris : "The asynchronous state in cortical circuits", *Science*, Vol.327, No.587, pp.587-590 (2010)
- (20) D. A. Wagenaar, J. Pine, and S. M. Potter : "An extremely rich repertoire of bursting patterns during the development of cortical cultures", *BMC Neuroscience*, Vol.7, No.11 (2006)
- (21) J. J. Sun, W. Kilb, and H. J. Luhmann : "Self-organization of repetitive spike patterns in developing neuronal networks in vitro", *European Journal of Neuroscience*, Vol.32, pp.1289-1299 (2010)
- (22) Y. Jimbo, T. Tatenno, and H. Robinson : "Simultaneous induction of pathway-specific potentiation and depression in networks of cortical neurons", *Biophysical Journal*, Vol.76, pp.670-678 (1999)
- (23) Y. Jimbo, A. Kawana, P. Parodi, and V. Torre : "The dynamics of a neuronal culture of dissociated cortical neurons of neonatal rats", *Biological Cybernetics*, Vol.83, pp.1-20 (2000)
- (24) G. Shahaf and S. Marom : "Learning in networks of cortical neurons", *Journal of Neuroscience*, Vol.21, No.22, pp.8782-8788 (2001)
- (25) G. W. Gross : "Simultaneous single unit recording in vitro with a photoetched laser deinsulated gold multimicroelectrode surface", *IEEE Trans. Biomedical Engineering*, Vol.26, No.5, pp.273-279 (1979)
- (26) J. Pine : "Recording action potentials from cultured neurons with extracellular microcircuit electrodes", *Journal of Neuroscience Methods*, Vol.2, No.1, pp.19-31 (1980)
- (27) A. Takeuchi, S. Nakafutami, H. Tani, M. Mori, Y. Takayama, H. Moriguchi, K. Kotani, K. Miwa, J. K. Lee, M. Noshiro, and Y. Jimbo : "Device for co-culture of sympathetic neurons and cardiomyocytes using microfabrication", *Lab on a Chip*, Vol.11, No.13, pp.2268-2275 (2011)
- (28) L. Berdondini, K. Imfeld, A. Maccione, M. Tedesco, S. Neukom, M. Koudelka-Hep, and S. Martinoia : "Active pixel sensor array for high spatio-temporal resolution electrophysiological recordings from single cell to large scale neuronal networks", *Lab on a Chip*, Vol.9, No.18, pp.2644-2651 (2009)
- (29) U. Frey, J. Sedivy, F. Heer, R. Pedron, M. Ballini, J. Mueller, D. Bakkum, S. Hafizovic, F. D. Faraci, F. Greve, K. U. Kirstein, and A. Hierlemann : "Switch-Matrix-Based High-Density CMOS Microelectrode Array in CMOS Technology", *IEEE Journal of Solid-State Circuits*, Vol.45, No.2, pp.467-482 (2010)
- (30) D. J. Bakkum, U. Frey, J. Mueller, M. Fiscella, B. Rosic, H. Takahashi, and A. Hierlemann : "Capabilities of a High-Density CMOS Microelectrode Array to Identify, Record, and Stimulate Individual Neurons in Cultured Networks", *Proceedings of the 8th International Meeting on Substrate-Integrated Micro Electrode Arrays*, pp.206-207 (2012)
- (31) D. J. Bakkum, U. Frey, J. Mueller, M. Fiscella, H. Takahashi, and A. Hierlemann : "Novel neuronal cellular and network measurements enabled by a high-density 11,011-electrode CMOS array", *Proceedings of the 7th International Meeting on Substrate-Integrated Micro Electrode Arrays*, pp.324-326 (2010)
- (32) Y. Shu, A. Hasenstaub, A. Duque, Y. Yu, and D. A. McCormick : "Modulation of intracortical synaptic potentials by presynaptic somatic membrane potential", *Nature*, Vol.441, No.7094, pp.761-765 (2006)
- (33) H. Alle and J. R. Geiger : "Combined analog and action potential coding in hippocampal mossy fibers", *Science*, Vol.311, No.5765, pp.1290-1293 (2006)
- (34) T. Sasaki, N. Matsuki, and Y. Ikegaya : "Action-potential modulation during axonal conduction", *Science*, Vol.331, No.599, pp.599-601 (2011)
- (35) D. J. Bakkum, Z. C. Chao, and S. M. Potter : "Long-term activity-dependent plasticity of action potential propagation delay and amplitude in cortical networks", *PLoS One*, Vol.3, e2088 (2008)
- (36) J. R. Wolpaw, N. Birbaumer, W. J. Heetderks, D. J. McFarland, P. H. Peckham, G. Schalk, E. Donchin, L. A. Quatrano, C. J. Robinson, and T. M. Vaughan : "Brain-computer interface technology: A review of the first international meeting", *IEEE Trans. Rehabilitation Engineering*, Vol.8, No.2, pp.164-173 (2000)
- (37) J. R. Wolpaw, N. Birbaumer, D. J. McFarland, G. Pfurtscheller, and T. M. Vaughan : "Brain-computer interfaces for communication and control", *Clinical Neurophysiology*, Vol.113, No.6, pp.767-791 (2002)
- (38) D. Ariely and G. S. Berns : "SCIENCE AND SOCIETY Neuromarketing: the hope and hype of neuroimaging in business", *Nature Reviews Neuroscience*, Vol.11, No.4, pp.284-292 (2010)
- (39) J. Wessberg, C. R. Stambaugh, J. D. Kralik, P. D. Beck, M. Laubach, J. K. Chapin, J. Kim, S. J. Biggs, M. A. Srinivasan, and M. A. Nicolelis : "Real-time prediction of hand trajectory by ensembles of cortical neurons in primates", *Nature*, Vol.408, No.6810, pp.361-365 (2000)
- (40) L. R. Hochberg, M. D. Serruya, G. M. Friehs, J. A. Mukand, M. Saleh, A. H. Caplan, A. Branner, D. Chen, R. D. Penn, and J. P. Donoghue : "Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia", *Nature*, Vol.442, No.7099, pp.164-171 (2006)
- (41) G. Santhanam, S. I. Ryu, B. M. Yu, A. Afshar, and K. V. Shenoy : "A high-performance brain-computer interface", *Nature*, Vol.442, No.7099, pp.195-198 (2006)
- (42) K. A. Norman, S. M. Polyn, G. J. Detre, and J. V. Haxby : "Beyond mind-reading: multi-voxel pattern analysis of fMRI data", *Trends in Cognitive Sciences*, Vol.10, No.9, pp.424-430 (2006)
- (43) Y. Miyawaki, H. Uchida, O. Yamashita, M. A. Sato, Y. Morito, H. C. Tanabe, N. Sadato, and Y. Kamitani : "Visual image reconstruction from human brain activity using a combination of multiscale local image decoders", *Neuron*, Vol.60, pp.915-929 (2008)
- (44) O. Yamashita, M. A. Sato, T. Yoshioka, F. Tong, and Y. Kamitani : "Sparse estimation automatically selects voxels relevant for the decoding of fMRI activity patterns", *Neuroimage*, Vol.42, pp.1414-1429 (2008)
- (45) A. Funamizu, R. Kanzaki, and H. Takahashi : "Distributed representation of tone frequency in highly decodable spatio-temporal activity in the auditory cortex", *Neural Networks*, Vol.24, No.4, pp.321-332 (2011)
- (46) J. V. Haxby, M. I. Gobbini, M. L. Furey, A. Ishai, J. L. Schouten, and P. Pietrini : "Distributed and overlapping representations of faces and objects in ventral temporal cortex", *Science*, Vol.293, No.2425, pp.2425-2430 (2001)
- (47) K. N. Kay, T. Naselaris, R. J. Prenger, and J. L. Gallant : "Identifying natural images from human brain activity", *Nature*, Vol.452, pp.352-355 (2008)
- (48) S. Nishimoto, A. T. Vu, T. Naselaris, Y. Benjamini, B. Yu, and J. L. Gallant : "Reconstructing visual experiences from brain activity evoked by natural movies", *Current Biology*, Vol.21, No.19, pp.1641-1646 (2011)

高橋宏知 (正員) 2003年東京大学大学院工学系研究科(産業機械工学専攻)博士課程を修了。博士(工学)。同年、東京大学大学院工学系研究科(産業機械工学専攻)助手。2004年、同情報理工学系研究科(知能機械情報学専攻)講師。2006年、現職の東京大学先端科学技術研究センター講師。2008~2012年、科学技術振興機構さきがけ研究者。福祉工学、感覚代行デバイスの開発、聴覚生理学など、医学・工学の境界領域の研究に従事。日本生体医工学学会、米国神経科学会等各会員。



神保泰彦 (正員) 1988年東京大学大学院工学系研究科修了、工学博士。同年 NTT 基礎研究所研究員、1992~1993年、フランス CNRS 客員研究員(Unite de Neurocybernetique Cellulaire, Marseille)。2003年、東京大学大学院工学系研究科助教授、2006年より同新領域創成科学研究科教授。工学技術を利用した生体現象の理解と医療応用に関する研究に従事。IEEE、生体医工学学会各会員。



ラット大脳皮質の局所電場電位における 迷走神経刺激による同期度の変化

非会員 狩野 竜示* 非会員 宇佐美 憲一**

非会員 野田 貴大* 非会員 磯口知世*

非会員 川合謙介** 非会員 神崎 亮平*** 会員 高橋宏知*,***,****

Vagus nerve stimulation induced synchrony modulation of local field potential in the rat cerebral cortex.

Ryuji Kano*, Non-member, Kenichi Usami**, Non-member,

Takahiro Noda*, Non-member, Tomoyo Isoguchi*, Non-member,

Kensuke Kawai**, Non-member, Ryohei Kanzaki***, Non-member, Hirokazu Takahashi*,***, Member

Vagus Nerve Stimulation (VNS) is a surgical treatment for intractable epilepsy. Therapeutic mechanisms of VNS have not been elucidated. Although one of the putative mechanisms of VNS is desynchronization among cortical neurons, it is difficult to detect such acute neuronal dynamics by scalp-recording electroencephalography (EEG). Some animal studies have shown that VNS induces decrease in spike rates and that VNS evokes desynchronization of MUA, yet neuronal dynamics at a local network level, i.e., on the order of a few mm, have not been fully characterized. In this study, we measured the local field potential (LFP) with high-spatial resolution using a microelectrode array from adult rat temporal cortices and analyzed VNS-evoked phase modulation at a local network level. We used phase locking value (PLV) as an index of synchronization, and found that VNS induced increase in PLV of temporal cerebral cortex at Gamma bands. Thus, VNS elicits synchronization of LFP at Gamma band.

キーワード：迷走神経刺激，大脳皮質，局所電場電位，多点電極，ラット

(vagus nerve stimulation, cerebral cortex, local field potential, microelectrode array, rat)

a) Correspondence to: Hirokazu Takahashi. E-mail: takahashi@i.u-tokyo.ac.jp

* 東京大学大学院情報理工学系研究科知能機械情報学専攻
〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

Department of Mechano-informatics, Graduate School of
Information Science and Technology, The University of Tokyo
7-3-1, Hongo, Bunkyo-ku, Tokyo 113-8655, Japan

** 東京大学先大学院医学系研究科脳神経外科学
〒113-8655 東京都文京区本郷7-3-1

Department of Neurosurgery, Graduate School of Medicine,
The University of Tokyo

*** 東京大学先端科学技術研究センター
〒153-8904 東京都目黒区駒場4-6-1

Research Center for Advanced Science and Technology, The
University of Tokyo

4-6-1, Komaba, Meguro-ku, Tokyo 153-8904, Japan

**** 科学技術振興機構 さきがけ
〒332-0012 埼玉県川口市本町 4-1-8

PRESTO, JST

4-1-8, Honcho Kawaguchi, Saitama, Japan 332-0012

1. 序論

迷走神経刺激療法 (Vagus nerve stimulation: VNS) は、てんかんに対する緩和的治療である。体内植込型の刺激発生装置を用いて迷走神経を電気刺激することにより、てんかん発作を軽減させる。てんかん治療にはまず、抗てんかん薬が用いられるが、約 3 割は投薬で発作を制御できない難治性てんかんである。VNS は難治性てんかんに対する次なる治療の選択肢の一つである。1990 年代に行われた無作為化臨床試験によってその有効性が確立され^{(1)~(3)}、これまでに全世界ですでに累計 6 万件以上の植込が行われている。

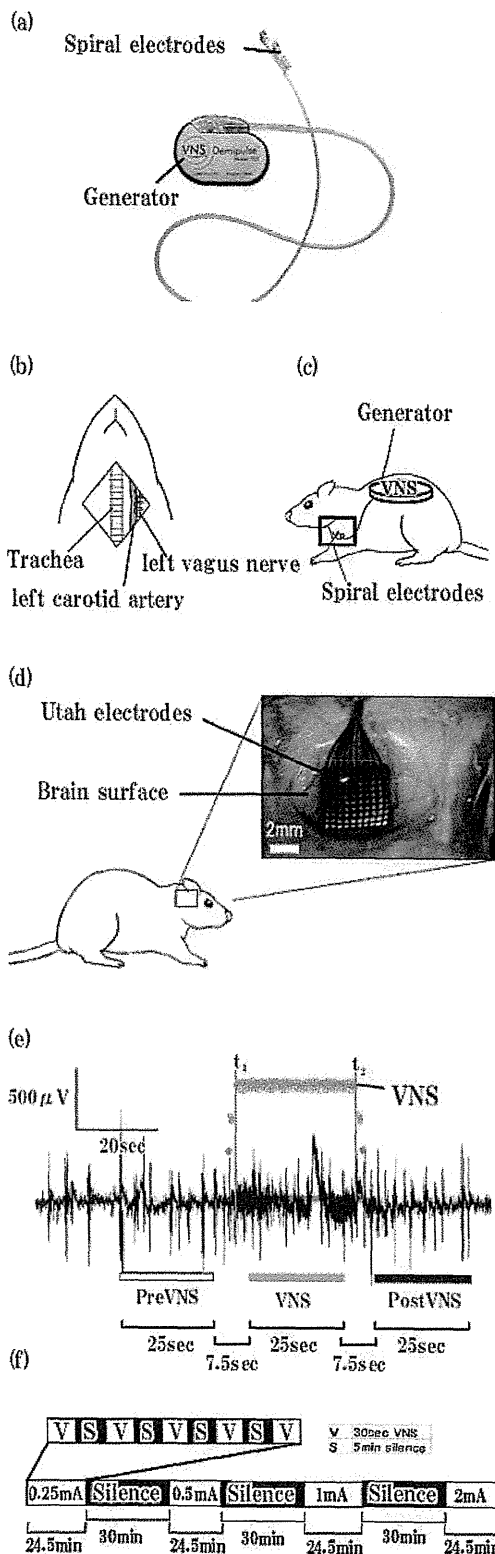


Fig.1. Experimental procedure.

(a) Vagus nerve stimulation device used in the experiments. (Cyberonics) (b) Anatomical landmarks of vagus nerve in rats. Spiral electrodes are wrapped around the left vagus nerve. (c) Implantation of VNS generator. The generator is implanted subcutaneously on the dorsal side of rats. (d) Cortical mapping of neural activities using microelectrode array. The figure shows the array inserted in the temporal cortex. (e) LFP used in analyses. LFP was divided into 3 separate periods: PreVNS, VNS, and PostVNS, which are 25 seconds before, during, and after VNS, respectively. VNS was effective between t_1 and t_2 in the inset. (f) Test trial. In each trial, VNS with durations of 30 sec were presented 5 times with inter-stimulus interval of 5 min. A new trial with a different stimulation current was followed after a 30-min rest period. (g) Waveform of VNS. Biphasic current pulse was used. In the phase "A" in the inset, afferent pathways were activated, while a pulse in the phase "B" was below the threshold for activation of efferent pathways.

一方、VNS の作用機序には未解明の点が多い。VNS のてんかん抑制効果には、慢性効果と急性効果がある。慢性効果では継続的に VNS を使用することにより、数か月・数年の単位で異常脳波の出現や発作頻度が減少する⁽³⁾。また、そのときの脳波変化として非レム睡眠期の δ 波と θ 波の増加、覚醒時とレム睡眠期の α 波の増加が報告されている⁽⁴⁾。急性効果では、てんかん発作開始直後に VNS を施すことにより、発作が抑制される。VNS 刺激直後の大脳皮質の電気生理学的な現象として、複数ニューロンのマルチユニット活動 (multi-unit activity; MUA) では、スパイク頻度や発火コヒーレンスの減少が報告されている⁽⁵⁾⁽⁶⁾。一方、脳波 (EEG) では、VNS 刺激時と非刺激時の差異はないとされている⁽⁷⁾。しかし、ヒトの脳波計測は、脳表の電場を cm 単位で計測しており、局所的な神経活動の同期を適切には評価できない。

VNS は、弧束核や青斑核を介して、ノルアドレナリン作動系やセロトニン作動系を修飾し、皮質の局所的な神経活動の同期を調節することで、てんかん発作の抑制に関わっていると考えられている⁽⁸⁾⁽⁹⁾。また、てんかん発作には、視床・皮質間の異常な相互作用の関与が示唆されている⁽¹⁰⁾⁻⁽¹²⁾。視床から皮質への入力、脳表から深さ 500 μ m 程度の 4 層へ投射している。そこで本研究では、mm 単位の空間分解能を持つ微小多点電極をラット脳皮質 4 層に刺入し、局所電場電位 (local field potential; LFP) と MUA の

計測を行うことで、VNS が局所的な神経活動の同期に与える影響を評価した。

また、VNS の電気刺激に使われるパラメータは、電流値、刺激頻度、パルス幅などがある。特に電流値は臨床においてももっとも調整を行うパラメータである。そこで、本稿では、特に電流値に着目して、その変化が LFP に対してどのような効果をもたらすかを検証した。

2. 方法

〈2・1〉 電気生理計測 全ての動物実験は、「東京大学動物実験マニュアル」に則って行った。6 匹の 11 週齢オスのウィスター・ラット(体重 270~330 g) を使用した。実験台にラットを固定し、イソフルラン麻酔下で手術操作を行った。麻酔濃度は、導入時には 3.0~3.5%、維持時には 1.5~2.0% とした。局所麻酔として、切開する頭皮下にリドカイン塩酸塩を注入した後、右側頭部の頭皮及び筋肉を除去し、右側頭骨をドリルで除去し、硬膜を剥がすことで脳表(右側頭葉)を露出した(Fig. 1.(d))。頭蓋内圧の上昇を防ぐため、後頭部に小切開を置き、頸髄後部の硬膜を切開して脳脊髄液を持続的に排出させた。頭頂部(矢状縫合の左側)に直径 1 mm の穴をドリルで開け、ソケット電極を接続してこれをリファレンスとし、頸部皮下に針状電極を刺入してこれをグラウンドとした。露出させた脳に剣山型の微小電極アレイ(Blackrock Microsystems, ICS-96)を、700 μm 程度の深さに刺入した。同電極は、400 μm 間隔で 96 点の計測点をもつ。計測される信号は LFP と MUA で、それぞれ、サンプリング周波数 1 kHz と 30 kHz で記録した。

〈2・2〉 聴皮質の同定方法 各計測点で、純音刺激に対する周波数選択性を評価し、聴覚皮質と非聴覚皮質を判別した。刺激音として 15 msec の持続時間の純音(立ち上がり、立下りはそれぞれ 5 msec)を提示した。純音の周波数は、1.6 - 64 kHz の範囲で 18 種類、音圧は 20 - 80 dB の範囲を 10dB 間隔で計 7 種類提示した。周波数-音圧平面上に、各刺激音に誘発される MUA の発火数の分布を求め、そのうち最も低い音圧で発火させられる周波数、すなわち特徴周波数(Characteristic Frequency; CF)を求めた。そして、CF の定義された電極点を聴覚皮質とした。

〈2・3〉 VNS 刺激 Fig. 1 (a)に、本実験で用いた迷走神経刺激装置(Cyberonics, Texas, VNS Therapy system model 103)の写真を示す。同装置は、らせん電極とパルスジェネレータから成る。計測一週間前にらせん電極を左迷走神経に留置し、パルスジェネレータを背側の皮下に埋設した(Fig. 1 (b-c))。

VNS の電気刺激パルスは、電荷が一か所に集積して神経線維を損傷しないよう、2 相性となっている(Fig. 1(g))。一相目の刺激は短時間高振幅で、二相目の刺激は長時間低振幅とすることで、上行性のみ活動電位を誘発する。

刺激のパラメータとして、電流値を、0.25 mA, 0.5 mA, 1.0 mA, 2.0 mA と 4 通りに変化させ、周波数を 10 Hz とした。各試行では、電流値を固定して、刺激時間は 30 秒、

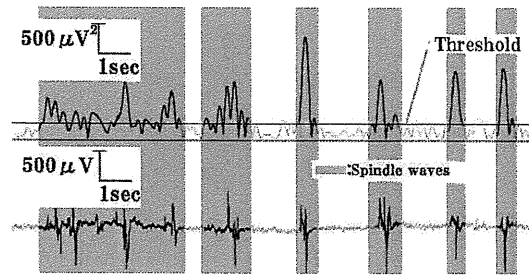


Fig.2. Spindle waves and non-spindle waves.

Lower and upper insets represent LFP and the instantaneous amplitude of filtered waves (8-13Hz). The period when the instantaneous amplitude surpassed the threshold is defined as spindle times.

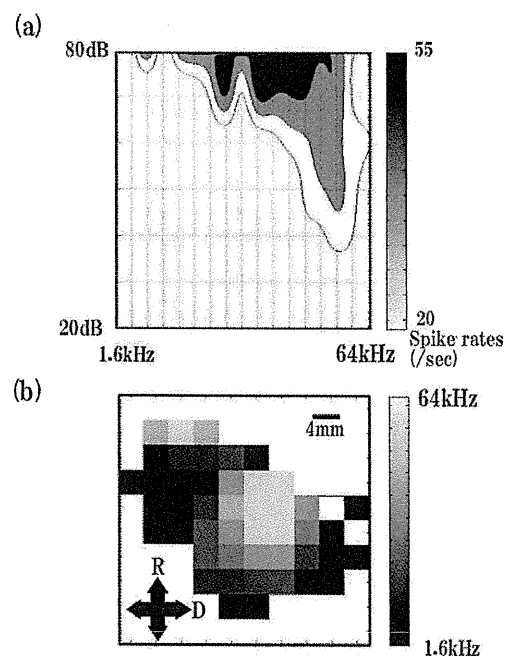


Fig.3. Physiological characterization of auditory cortex.

(a) Representative tuning curve. The gray level shows the spike rates per seconds in response to various test tones with a given pair of frequency and intensity. (b) Tonotopic map. The gray level shows a characteristic frequency at a given recording site.

刺激時間間隔は 5 分間とし、合計 5 回刺激した。一つの試行が終わってから、30 分後、電流値を変えて、次の試行を開始した(Fig.1 (f))。

〈2・5〉 信号解析-スピンドル 解析対象をスピンドル波形が観測されない時間に限定するために、スピンドル波が発生している時間とそうでない時間を以下の方法で区分した。まず、スピンドルの周波数帯域である 11 - 16 Hz において、バンドパスフィルタをかけ、ヒルベルト変換を施すことにより、各時刻の瞬時振幅を導出した。その後、ス

スピンドルが出ていないと明らかに認識される時刻において、瞬時振幅の平均と分散を求め、そこから導出される Z スコアが 3 以上の波形の点をスピンドル時間と定めた。さらにスピンドル波間の時間が 250 msec 以下である場合には、その間の時間帯もスピンドルとして処理した(Fig.2)。

〈2・6〉 信号解析-PLV 同期度の指標として位同期度 (Phase Locking Value; PLV) を用いた。まず、計測信号にバンドパスフィルター、ヒルベルト変換を順次かけ、各時刻の瞬時位相を求める。2チャンネル間 (ch1, ch2) の瞬時位相の位相差を $\Delta \phi = (\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})$ 、時間長を T とすると、PLV は式 (1) で定義される。

$$PLV(ch1, ch2) = \left| \frac{1}{T} \sum_t e^{i(\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})} \right| \dots\dots(1)$$

この PLV を、聴覚皮質と同定された N 個の計測点全ての組み合わせ ($N \times (N - 1) / 2$) で導出し、その平均を同期度の指標として今回用いた(式(2))。

$$\frac{2}{N(N-1)} \sum_{ch1}^N \sum_{ch2}^N PLV(ch1, ch2) \dots\dots(2)$$

VNS 作用直前 (PreVNS)、VNS 作用中 (VNS)、VNS 作用直後 (PostVNS) で、それぞれ PLV を 25 秒間にわたり、計算した (Fig.1 (e))。ただし、スピンドルと判断された部分は PLV の計算には含めなかった。PLV の計算は 8 種類の帯域において行った: Slow 波, 0.5~1 Hz; δ 波, 1~4 Hz; θ 波, 4~8 Hz; α 波, 8~13 Hz; Low β 波, 13~21 Hz; High β 波, 21~30 Hz; Low γ 波, 30~45 Hz; High γ 波, 55~80 Hz。

〈2・7〉 信号解析-パワースペクトル PLV の変化が、VNS 刺激による LFP パワーの変動に付随しないこと示すため、パワースペクトルを導出した。導出に用いた時間は PLV と同様に、PreVNS、VNS、PostVNS である。パワースペクトルは帯域ごとに積分し、周波数単位で平均した値 (mV^2) を求めた。

3. 結果

〈3・1〉 聴覚皮質の同定 Fig. 3 (a) は、ある計測点における各刺激音に対する発火頻度 (1/sec) を、濃淡で示している。同計測点は 40 kHz の CF をもつことがわかる。Fig. 3 (b) は、このようにして各計測点で求めた CF をもとに描いた周波数局在地図である。

〈3・2〉 PLV に対する VNS の影響 Fig.4 (a) に、任意の点 (*) を基点とした聴覚皮質内の他の計測点との PLV 値をグレースケールで示す。基点からの距離を d とすると、d が大きくなるにつれ、PLV 値が下がっている。Fig.4 (b) に、0.5 mA、10 Hz の VNS による PLV の変化量を、帯域ごとに示す。全帯域で同期度の増加が見られ、特に Low γ 、High γ バンドで有意に増大した ($p < 0.05$)。

〈3・3〉 パワースペクトル Fig.4 (c) より、PreVNS に

比べ、PostVNS のパワースペクトルは、 α 、Low γ 、High γ 帯域で有意に減少した ($p < 0.05$)。このことから PLV の上昇は、VNS による活動強度の増加に起因しないことが示唆される。

〈3・4〉 PLV と距離の関係 次に、基点からの距離に依存した PLV の変化を調べた。基点には、CF の定義された全ての計測点を用いた。電極間距離を、0 - 3.6 mm の範囲で 0.4 mm 間隔ごとに 9 群に分け、CF の定義された計測点間のうち、各距離群に含まれる全ての組み合わせの PLV 平均値を計算した。Fig. 4 (a) と同様に、Fig. 4 (d, e) は、d に対する PLV の変化量を帯域ごとに示している (Fig. 4 (d-e))。エラーバーは 6 個体の標準偏差である。同図より、PLV は中距離 (1.0 - 1.2mm 程度) で極大となった。この傾向は α 帯域、Low β 帯域でも観察されるが、低周波の δ 帯域では観察されなかった。

〈3・5〉 PLV と電流値の関係 VNS の電流値をパラメータとしたとき、VNS による PLV の変化を調べたところ、Low γ 帯、と High γ 帯において、0.5 mA から 2.0 mA のとき、PLV は有意に増加した。また、その最大の変化は、0.5 mA のときに得られた (Fig. 4(f))。

4. 考察

〈4・1〉 PLV 値の増加の原因 LFP の各帯域の振幅が小さいと、瞬時位相が不明瞭になり、その結果として、PLV 値も減少するため、振幅と位相は正の相関関係になる場合がある。しかし、本実験の結果では VNS 刺激後には、パワースペクトルの値は増加しておらず、周波数帯によっては、逆に有意に減少した。したがって、この同期度の増加は、LFP の振幅の増加とは無関係である。

〈4・2〉 麻酔の影響 本研究はイソフルラン麻酔下のラットで行った。PLV 増減の一因に、VNS による麻酔深度への影響が考えられる。しかし、Fig. 4 (f) は、電流値をパラメータとした時に、最大電流値の 2.0 mA ではなく、0.5mA の時に、PLV の増加が最大となることを示している。VNS の刺激が麻酔の深度に影響を与えたとするならば、電流値がもっとも強いときにその傾向が顕著になるはずである。したがって、麻酔深度が PLV の変化に影響を与えた可能性は低いと考える。

〈4・3〉 同期度の上昇とてんかんの関係 てんかん発作は、脳の神経活動が異常に同期する疾患である。VNS がてんかんを抑制することを考えると、神経活動の同期度は低下することが予想されるが、今回の実験結果では LFP の同期度は VNS により上昇した。これと似たような現象として、一部の抗てんかん薬は GABA 受容体を活性化させ、GABA 作動性の抑制性介在ニューロンの活動を亢進させて錐体細胞の活動を抑制するが、これは脳波上では γ 帯域の同期となって現れる⁽¹³⁾⁽¹⁴⁾。VNS が抗てんかん薬と同様に GABA 受容体を亢進させていると仮定すると、VNS は神経集団を γ 帯域で同期させつつ、細胞単位では脱同期を起こすことでてんかん発作を抑制しているという作用機序が示唆され

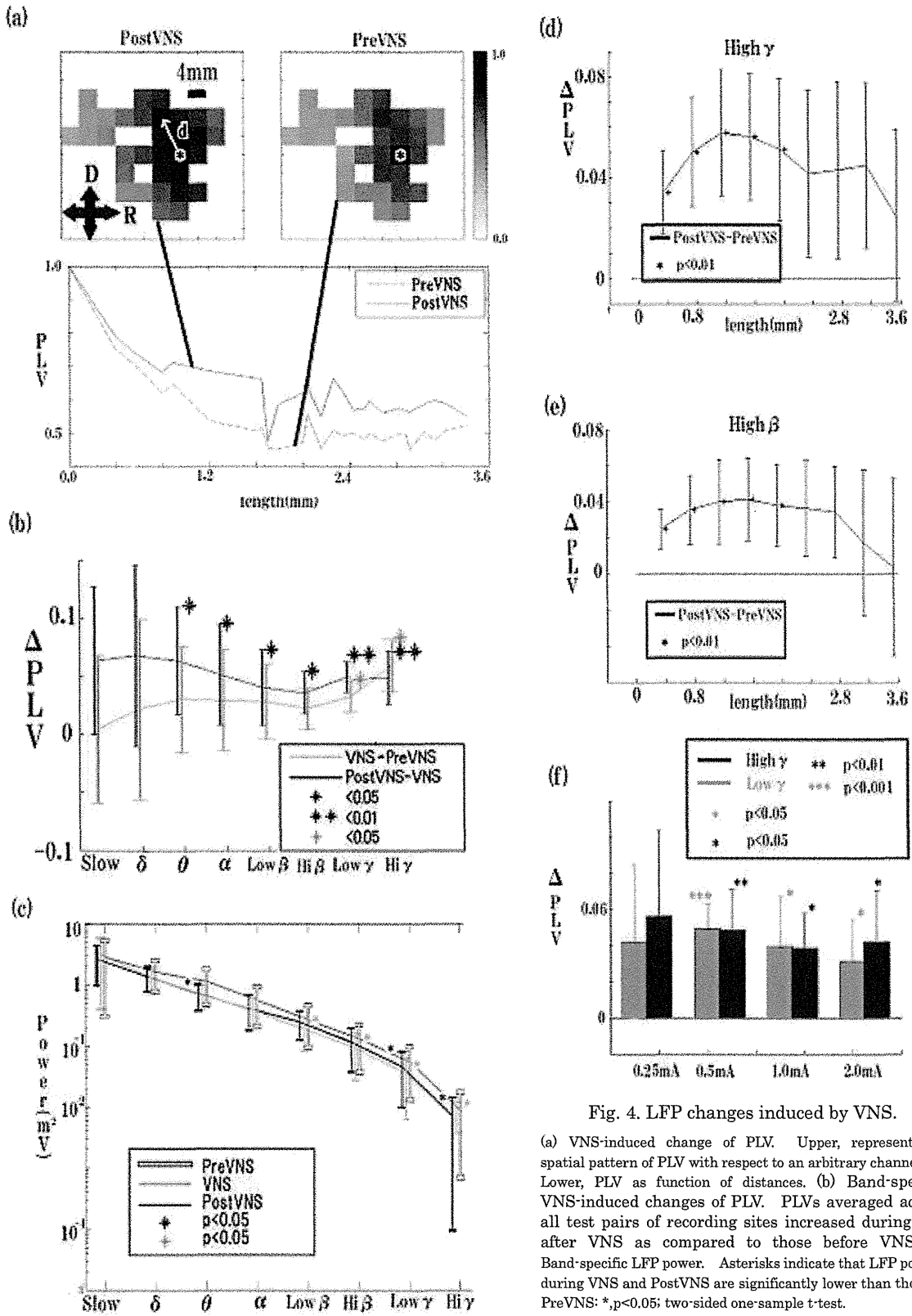


Fig. 4. LFP changes induced by VNS.

(a) VNS-induced change of PLV. Upper, representative spatial pattern of PLV with respect to an arbitrary channel (*). Lower, PLV as function of distances. (b) Band-specific VNS-induced changes of PLV. PLVs averaged across all test pairs of recording sites increased during and after VNS as compared to those before VNS. (c) Band-specific LFP power. Asterisks indicate that LFP powers during VNS and PostVNS are significantly lower than those of PreVNS: *, $p < 0.05$; two-sided one-sample t-test.

(d, e) VNS-induced increase of PLV in high gamma (d) and high beta bands (e) as a function of distance of a test pair of recording sites. (f) VNS effects as a function of stimulation current. PLVs of low and high gamma bands increased after VNS in a current dependent manner. Asterisks indicates that PLV are significantly larger for PostVNS than PreVNS: *, $p < 0.05$; one-sided two-sample t-test.

る。

〈4・4〉 PLV と電流値の関係 Fig. 4(f)の結果から、0.5 mA の VNS 刺激時に PLV の上昇が最も高かった。0.5mA 以上にしたときに逆に PLV の上昇が減少した原因の一つとして、迷走神経中の C 線維の活性化が考えられる。C 線維は電流値が高いほど活動電位が発生し、その際脳波においては脱同期がみられるということが知られているからである⁽¹⁵⁾⁽¹⁶⁾。

5. 結論

本研究は、VNS が LFP に与える影響を調べた。麻酔下のラットで、側頭葉の LFP を多点同時計測し、VNS 前後で、LFP のパワーと同期度を比較した。その結果、VNS は、LFP のパワーを増大させることなく、 γ 帯域における同期度を増加させることがわかった。このような同期の変化は、1 mm 程度離れた電極間で最も顕著に認められた。また、VNS が PLV の変化に及ぼす影響は、刺激強度が 0.5 mA のときに最大になった。これらの知見は、VNS の生理学的作用の解明に加え、臨床的なパラメータ設定にも有用であると考えられる。

文 献

- (1) The.Vagus.Nerve.Stimulation.Study.Group. : "A randomized controlled trial of chronic vagus nerve stimulation for treatment of medically intractable seizures", *Neurology*, 45, p.224-230 (1995)
- (2) A. Handforth, et al : "vagus nerve stimulation therapy for partial-onset seizures: a randomized active-control trial", *Neurology*, 51, p.48-55 (1998)
- (3) Morris, G. L., 3rd & Mueller, W. M. : "Long-term treatment with vagus nerve stimulation in patients with refractory epilepsy", *Neurology*, 53, pp.1731-1735 (1999)
- (4) P. Rizzo, M. Beelke, F. De Carli, P. Canovaro, L. Nobili, et al: "Modifications of sleep EEG induced by chronic vagus nerve stimulation in patients affected by refractory epilepsy", *Clin Neurophysiol*, 115, pp.658-64 (2004)
- (5) B. Koo : "EEG changes with vagus nerve stimulation", *Journal of Clinical Neurophysiology*, 18, pp.434-441 (2001)
- (6) J. A. Nichols, A. R. Nichols, S. M. Smirkanis, N. D. Engineer, M. P. Kilgard and M. Atzori. : "Vagus nerve stimulation modulates cortical synchrony and excitability through the activation of muscarinic receptors", *Neuroscience*, 189, pp.207-214 (2011)
- (7) Hammond, E. J., Uthmann B.M., Reid, S.A. & Wilder, B.J.: "Electrophysiological studies of cervical vagus nerve stimulation in humans: I EEG effects", *Epilepsia*, 33, pp.1013-1020 (1992)
- (8) SE. Krahl, KB Clark, DC. Smith, RA, Browning: "Locus coeruleus lesions suppress the seizure-attenuating effects of vagus nerve stimulation", *Epilepsia*, 39, 7, pp.709-714 (1998)
- (9) P. Rutecki: "Anatomical, physiological, and theoretical basis for the antiepileptic effect of vagus nerve stimulation", *Epilepsia*, 31, pp.S1-S6 (1990)
- (10) M. Steriade, D. Contreras : "Relations between cortical and thalamic cellular events during transition from sleep patterns to paroxysmal activity", *J. Neurosci.*, 15, pp.623-642 (1995)
- (11) D. Pinault, et al : "Intracellular recordings in thalamic neurons during spontaneous spike and wave discharges in rats with absence epilepsy", *J. Physiol. (Lond.)* 509, pp.449-456 (1998)
- (12) J. T. Paz, A. S. Bryant, K. Peng, L. Fenno, O. Yizhar, W. N. Frankel, K. Deisseroth, J. R. Huguenard : "A new mode of corticothalamic transmission revealed in the Gria4(-/-) model of absence epilepsy", *Nature Neuroscience*, 14, pp.1167-73 (2011)
- (13) S. R. Cobb, E. H. Buhl : "Synchronization of neuronal activity in hippocampus by individual GABAergic interneurons", *Nature*, 378, pp.75-78 (1995)
- (14) K. Schindler, C. E. Elger : "Increasing synchronization may promote seizure termination: Evidence from status epilepticus", *Clinical Neurophysiology*, 118, pp.1955-1968 (2007)
- (15) A. Groves, J. Brwon : "Vagal nerve stimulation: a review of its applications and potential mechanisms that mediate its clinical effects", *Neuroscience*, 29, 3, pp.493-500 (2005)
- (16) D. Woodbury, J. Woodbury : "Effects of vagal stimulation on experimentally induced seizures in rats", *Epilepsia*, 31, pp.S7-S19 (1990)

The propagation of high amplitude electrocorticogram toward an epileptic seizure onset

Hayeong Lee¹, Kensuke Kawai¹, Ryohei Kanzaki¹, Hirokazu Takahashi^{1,2}

¹ The University of Tokyo, Tokyo, Japan; ² PRESTO, JST, Tokyo, Japan
 hayeong@brain.imi.i.u-tokyo.ac.jp

Abstract: Synchronization in epileptic brain network reflects mechanisms of ictogenesis. We analyzed ECoG of epileptic patients based on the neuronal avalanche; the pattern reflects propagation of synchronized peaks in the cerebral cortex. We found that the branching parameter, which indicates development of neuronal avalanche, became larger toward a seizure onset in some patients. This result suggests that the propagation becomes more divergent toward a seizure onset.

Keywords: Epilepsy, Seizure prediction, Neuronal Avalanche, Cerebral cortex, Electrocorticogram

1. はじめに

てんかん患者のうち、25%は有効な治療法がないと報告されている¹⁾。てんかん発作の予測は、このように有効な治療法がない患者に対して、新たな治療法の開発につながると期待されている。現在まで、てんかんの診断に使われる脳波(EEG; Electroencephalogram)や皮質脳波(ECoG; Electrocorticogram)を利用して、多くのてんかん発作予測手法が提案されている²⁾。しかし、提案された手法は、治療へ応用できるほどの予測能力を示さないことが現状である^{2), 3)}。

効果的な予測手法は、てんかん発作の生成にいたるまでのメカニズムを反映しなければならない。てんかん発作にいたるまで、脳神経ネットワークにおける同期現象の変化を調べる研究がなされている⁴⁾。たとえば、てんかん患者の頭蓋骨内電極から計測された多点 EEG において、発作の直前に特定のペア間の同期が下がることが報告されている⁵⁾。このような研究は、発作にいたるまでの変化が、局所的だけではなく、脳全体の大域的な変化も示していることを示唆する。このような大域的な変化を調べることにより、従来より優れた手法を開発できる可能性がある。

本研究では、大域的な変化として、てんかん発作にいたるまで高振幅脳波の伝播に着目した。伝播を評価する手段として、神経活動の雪崩現象(Neuronal avalanche)を導入した^{6), 7)}。神経活動の雪崩現象は、新皮質で観測された多チャンネル LFP(Local Field Potential)のピークで観測される現象である^{6), 7)}。神経活動の雪崩現象には2つの大きな特徴がある。一つは、多チャンネルにおける、連続したピークの群を雪崩として定義したときに、雪崩の大きさ s と大きさ s の雪崩が出現する頻度 $D(s)$ の間で式(1)のような、べき則と呼ばれる関係がなりたつことである。

$$D(s) \propto s^{-\alpha} \quad (\alpha > 0) \quad (1)$$

二つは、雪崩の発展を観察すると、発散も収束もしない

い臨界状態にあることである。

著者らは、てんかん患者の皮質脳波を、神経活動の雪崩現象の手法で解析を行い、発作に向けた伝播の様子を調べた。これまでに、著者らは、2人の患者に対して、神経活動の雪崩現象を調べ、高エネルギー脳波の場合に脳波が発散する傾向がある可能性を示した^{8), 9)}。本研究では、これらの研究を発展させ、厳密に高エネルギー脳波を定義のもと、さらに、高振幅脳波の抽出方法に様々な条件を加え解析を行った。

2. 方法

2.1 被験者

本研究では、難治性てんかん患者の皮質脳波を解析した。同脳波は、診断用に埋めこめられた多チャンネル頭蓋骨内電極から計測した。Table 1 に本研究の被験者のデータを示す。すべての被験者は側頭葉てんかんの患者である。各被験者に対して、てんかん発作を含む約 10 時間のデータの解析を行った。サンプリング周波数は 400Hz である。

Table 1: Patient characteristics

Patients	Focal point	Type	# of Channel
1	Left temporal tip, unculus	SGTC	90
2	Left medial temporal lobe	CPS	86
3	Right temporal lobe	CPS	120

2.2 神経活動の雪崩現象

Fig. 1 に神経活動の雪崩現象を定義を示す。てんかん発作まで、脳波の時系列を 30 分に区切って雪崩を評価した^{6), 7)}。

まず、各チャンネルに対して、ピークを抽出した。ピークとして、皮質脳波における負の極大点を抽出した。脳波の時系列から平均 μ と標準偏差 SD を計算し、 $\mu - 3SD$ を閾値として定めた。一旦閾値以下になって再び閾値以上に戻るまでの時間で、最も低い値をピークとして抽出した。 Δt の時間ビン(time bin)でピークの時系列を抽出した。雪崩は Fig. 1 で赤く表示されたように、時間的に連続して現れたピークの群として定義された。

神経活動の雪崩現象を評価する指標として分岐パラメータ σ を用いた^{6), 7)}。 σ は雪崩の発展を表す指標であり、式 (2) のように定義される。

$$\sigma = \frac{\#PeakN}{\#PeakS} \quad (2)$$

#PeakS は雪崩が始まる時間ビンにおけるピークの数で、#PeakN はその次の時間ビンにおけるピークの数である。 σ の時間平均が 1 より大きいことは、雪崩が分散することを意味し、1 より小さいことは収束することを意味する。

σ の変化が発作にむけてどのように変化するかを求めるために、発作までの時間に対して、30 分間のデータから計算された σ の平均との回帰直線求めた。統計的には t 検定を行い、 σ の変化が有意であるかを確かめた。

解析結果は時間ビンの取り方やピークの抽出の仕方に依存する可能性があるため、いくつかの条件に分けて解析した。Table 2 に解析条件を示す。第一に、時間ビンの幅を変化させた。第二に、ピークの持続時間により抽出条件を変化させた。すなわち、閾値を下回る持続時間が時間ビンの幅より小さいときに、そのピークを無視した。

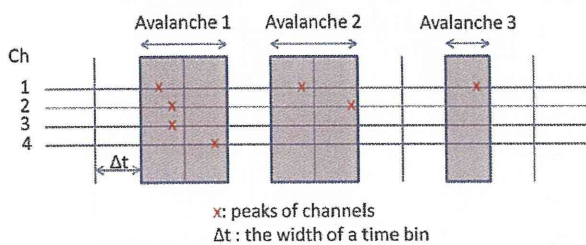


Fig. 1: Estimation of neuronal avalanche.

Table 2: Peak extraction

		Every peak	Neglect short peaks
Time bin	5	1_1	1_2
width (ms)	10	2_1	2_2
	20	3_1	3_2

2.3 脳波のエネルギー

てんかん患者の脳波を評価する既存の指標として、焦点における脳波のエネルギーを計測した¹⁾。一部の側頭葉てんかん患者では、頭蓋骨内脳波の二乗和平均をエネルギーとして計算したとき、発作の数時間前から長期間エネルギー・バーストと呼ばれる持続性の高エネルギー脳波が出現することが報告されている¹⁾。後に、予測手法としてエネルギーの一般性は否定されたが^{3), 10)}、焦点の局所的な活動を表す単純な指標として採用した。

脳波のエネルギーは式(3)のような二乗和平均で計算される。

$$E_k = \sum_{i=1}^N x(i)^2 \quad (3)$$

時間窓の幅は 5 秒、ステップ幅は 1 秒とした。この結果を元に 5 分間のエネルギーの移動平均を求めた。エネルギーの移動平均が安静時の平均+2 標準偏差を 10 分以上続いて超過している時間を長期間エネルギー・バーストとして抽出した。

3. 結果

3.1 分岐パラメータ

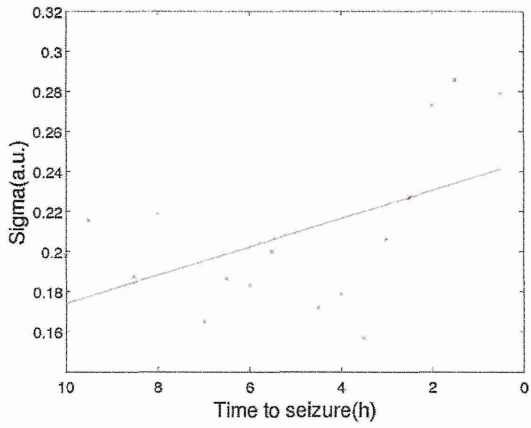
Fig. 2 に条件 2_2 において、発作までの時間と σ の関係を示す。直線は、発作までの時間と σ の間の線形回帰を示す。t 検定の結果、回帰直線の傾きが 0 でない ($p < 0.05$) ときは赤で、それ以外の場合 ($p > 0.05$) は緑で示す。

患者 1 に対しては、すべての条件で発作が近くなるにつれて σ が高くなった。t 検定の結果、条件 2_2, 3_1, 3_2 で $p < 0.05$ であった。患者 2 に対しては、すべての条件で発作が近くなるにつれて σ が高くなった。t 検定の結果では、条件 1_1, 1_2, 2_2 で $p < 0.05$ であった。患者 3 では、すべての条件において発作が近くなるにつれて σ が低くなり、t 検定の結果も $p > 0.05$ となった。

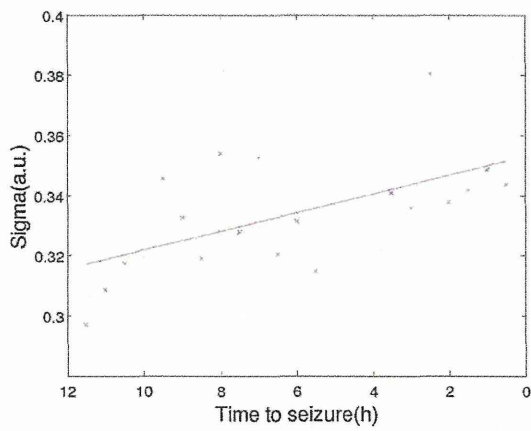
3.2 エネルギーと分岐パラメータの関係

Fig. 3 は各患者の焦点電極で計測されたエネルギーの変化を示している。赤い線は閾値を示している。患者 1 と患者 2 では顕著な長期間エネルギー・バーストが抽出されたが、患者 3 では検出されなかった。

(a) Patient 1



(b) Patient 2



(c) Patient 3

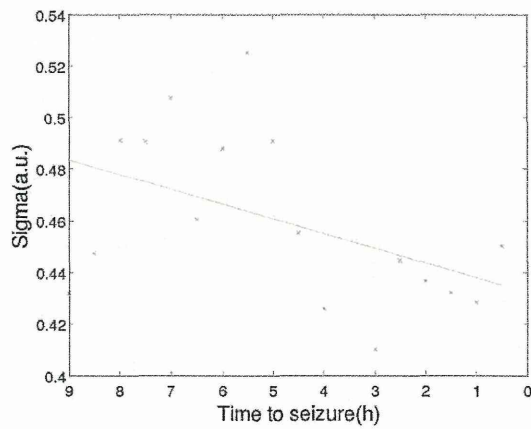
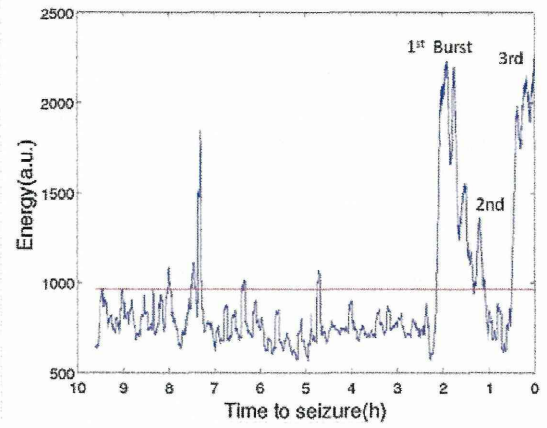
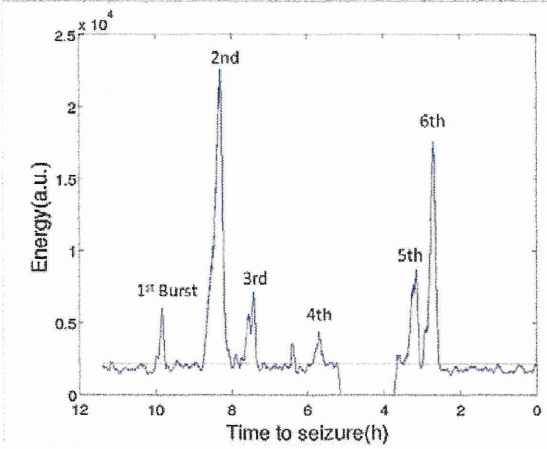


Fig. 2 : Time to seizure and branching parameter

(a) Patient 1



(b) Patient 2



(c) Patient 3

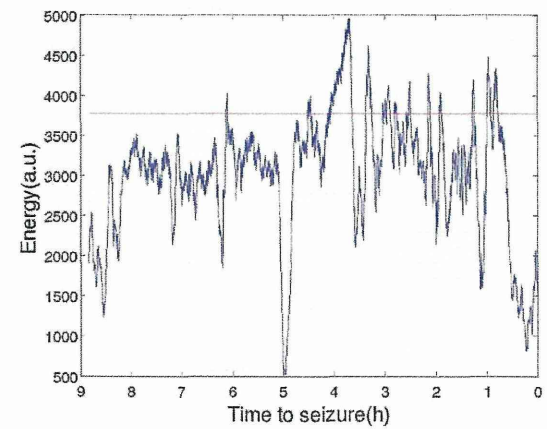


Fig. 3 : Time to seizure and energy

Fig. 3 の(a)と(b)に抽出されたエネルギー・バーストを示した。Table 3 に条件 2_2 で計算された、長期間エネルギー・バーストにおける σ の平均と安静時の 30 分の区間達における σ の平均を示す。

Energy burst	Patient 1	Patient 2
1 st	0.29	0.30
2 nd	0.29	0.35
3 rd	0.24	0.33
4 th		0.33
5 th		0.33
6 th		0.35
rest	0.19±0.021	0.31±0.013

患者 1 と 2 では長期間エネルギー・バーストの時間で、他の時間と比べて、高い σ が観測された。ただし、発作に向けた変化は認められない。

4. 考察

4.1 発作開始と分岐パラメータ

てんかん発作が近づくと、 σ が大きくなることは、ピークの信号が発散しやすくなることを示唆する。先行研究の *in vitro* 実験では、てんかんのモデルとして切片に Picrotoxin を注入すると、正常の切片と比べて σ が小さくなることが報告されている^{1 1), 1 2)}。

σ の値は、神経ネットワークにおけるシナプスの興奮と抑制のバランスに左右される^{6), 7)}。てんかん発作の生成メカニズムには GABA 性の抑制が重要な役割を果たしていると考えられている^{1 3)}。しかし、GABA 性の抑制が脳に与える影響は一律ではなく、状況依存的である^{1 3)}。本実験の結果は、脳の大域的なスケールでは、てんかん発作に向けて興奮と抑制のバランスが崩れ、脳波の伝播が発散することを示唆する。

4.2 今後の展望

2 人の患者に対しては、てんかん発作が近づくと、次第に σ が大きくなる傾向が認められたが、患者 3 に対しては、本実験で使われた手法は有効でない。多くの臨床例に対する実験を行い、有効な症例と有効でない症例を分けて、統計的に厳密な議論が必要である。

5. おわりに

本研究では、てんかん患者の皮質脳波を解析し、3 人のうち 2 人において、てんかん発作に向けて分岐パラメータが有意に高くなることを観測した。このような結果は、てんかん発作に向けて、発散しやすくなることを示唆する。今後、てんかん発作に予測において、このような傾向の有用性を検討する。

参考文献

- [1] Litt, B. *et al.*, Epileptic seizures may begin hours in advance of clinical onset: a report of five patients. *Neuron*, Vol 30, 51-64, 2001
- [2] Mormann, F., Andrzejak, R.G., Elger, C.E. & Lehnertz, K., Seizure prediction: the long and winding road., *Brain*, Vol 130, 314-333, 2007
- [3] Maiwald, T. *et al.* Comparison of three nonlinear seizure prediction methods by means of the seizure prediction characteristic. *Physica D: Nonlinear Phenomena*, Vol 194, 357-368, 2004
- [4] Lehnertz, K. *et al.* Synchronization phenomena in human epileptic brain networks. *Journal of neuroscience methods*, Vol 183, 42-8, 2009
- [5] Mormann, F. *et al.* Epileptic seizures are preceded by a decrease in synchronization., *Epilepsy Research*, Vol 53, 173-185, 2003
- [6] Beggs, J.&Plenz, D., Neuronal avalanches in neocortical circuits. *The Journal of neuroscience*, Vol 23, 11167-11177, 2003
- [7] Plenz, D. & Thiagarajan, T.C. The organizing principles of neuronal avalanches: cell assemblies in the cortex?, *Trends in neurosciences*, Vol 30, 101-10, 2007
- [8] 李夏榮, 川合謙介, 神崎亮平, 高橋宏知: 「神経活動の雪崩現象に基づくてんかん患者の多点皮質脳波の解析」, 生体医工学 50 (特別号)(CD-ROM), 2012 (第 51 回日本生体医工学学会大会, 福岡, 2012 年 5 月 10 日)
- [9] 李夏榮, 川合謙介, 神崎亮平, 高橋宏知: 「てんかん患者の多点皮質脳波における神経活動の雪崩現象の検証」, 電気学会研究会資料 医用・生体工学研究会 MBE-12-034~049, 41-46, 2012
- [10] Harrison, M.A.F., Frei, M.G. & Osorio, I., Accumulated energy revisited., *Clinical neurophysiology*, Vol 116, 527-31, 2005
- [11] Haldeman C, Beggs JM., Critical branching captures activity in living neural networks and maximizes the number of metastable States., *Physical Review Letters*, Vol 94, 058101, 2005
- [12] Plenz, D., Comment on “Critical Branching Captures Activity in Living Neural Networks and Maximizes the Number of Metastable States.”, *Physical Review Letters* Vol 95, 219801, 2005
- [13] Bernard, C., Cossart, R., Hirsch, J. C., Esclapez, M., Ben-Ari, Y., What is GABAergic Inhibition? How Is it Modified in Epilepsy?, *Epilepsia*, Volume 41, Issue Supplement s6, S90-S95, 2000

迷走神経刺激によるラット大脳皮質の神経活動の同期度の変化

狩野 竜示* 宇佐美 憲一 野田 貴大 白松(磯口) 知世
神崎 亮平 川合 謙介 高橋 宏知 (東京大学)

Vagus nerve stimulation induced synchrony modulation of local field potential in the cerebral cortex of rats.

Ryuji Kano*, Kenichi Usami, Takahiro Noda, Tomoyo Shiramatsu(Isoguchi)

Ryohei Kanzaki, Kensuke Kawai, Hirokazu Takahashi (Tokyo University)

Vagus nerve stimulation (VNS) is a treatment for refractory epilepsy. We densely map local field potentials in the auditory cortex of rats, and analyzed whether and how VNS affects synchrony of the cortical activity. We found that VNS synchronized the cortical activities in normal rats, while desynchronized in seizure model rats. This state-dependent modulation of cortical activity by VNS suggests that VNS plays some roles in maintaining the homeostatic properties.

キーワード：迷走神経刺激，大脳皮質，局所電場電位，多点電極，ラット，てんかん発作モデル

(Vagus nerve stimulation, cerebral cortex, local field potential, micro electrode array, epileptic seizure model rat)

1. 序論

迷走神経刺激療法 (VNS: vagus nerve stimulation) と呼ばれる手術療法が近年、てんかん治療の方法として注目を集めている。VNS は第 10 脳神経である迷走神経に、らせん電極を巻きつけ、電気刺激を行う治療方法である。てんかん発作中に VNS を施すと、発作の持続時間が短くなることから [1]、VNS は大脳皮質の神経活動に何らかの影響を与えていると考えられる。しかし、現在、VNS が脳活動に即時的に与える影響は知られていない [2]。また、VNS は元来てんかんの治療法として開発されたが、抗うつや認知機能の向上といった効果も報告されている [3]。ただし、VNS が認知機能を向上させるという効果には、臨床的に一貫した知見が得られていない。例えば、Clark は、記憶向上の効果が示したが [4]、Helmstaedter は、記憶の変化が無かったことを示している [5]。こうした相反する結果が得られている背景として、ヒトにおける VNS の研究は倫理上、健常者では行えないことが挙げられる。また、健常状態の脳活動と、てんかん発作状態の脳活動で、VNS が与える影響の差異もわかっていない。これらを精査するためには、動物実験モデルによる基礎研究が必要である。

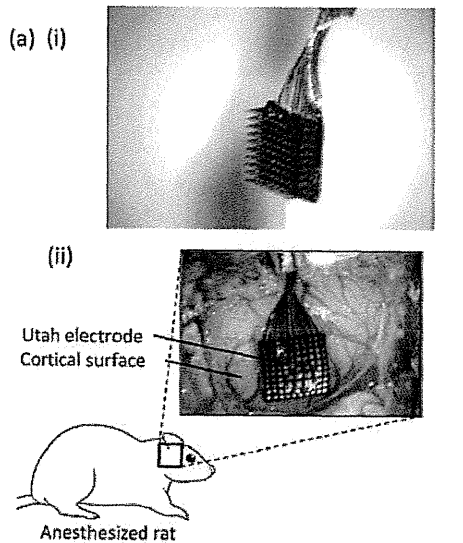
本研究では脳の状態に依存した VNS の効果を検証するため、ラットを健常状態と発作状態の二つに分けて、VNS が皮質活動に与える効果を調べた。発作状態は、カイニン酸を投与することで、人工的に作り出し、投薬以前の状態を健常状態とした。神経活動の計測には 10×10 の計測点を

$400 \mu\text{m}$ の電極間距離で有する微小電極アレイを用いた。同アレイを聴覚皮質第 4 層に刺入し、局所電場電位(local field potential: LFP)を多点同時計測した。著者らは、これまでに、VNS が皮質の局所的な同期を変化させることを示してきた。本研究では、そのような VNS の効果が、脳の状態に依存して、どのように変化するかを考察する。

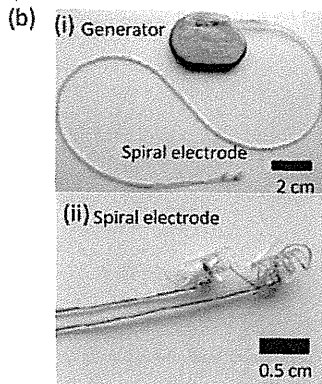
2. 方法

全ての動物実験は、「東京大学動物実験マニュアル」に則って行った。

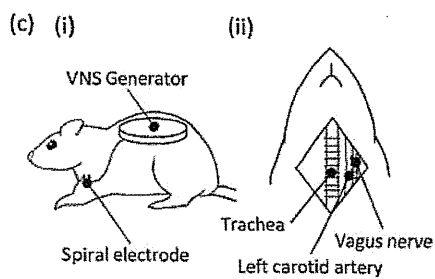
〈2・1〉 大脳皮質の神経活動の計測 6匹の11週齢オスのウィスター・ラット(体重 270~330 g)を使用した。頭部を定位装置に固定し、手術・計測をイソフルラン麻酔下で実施した。麻酔濃度は、導入時には 3.0~3.5%、維持時には 1.5~2.0%とした。局所麻酔として、切開する頭皮下にリドカイン塩酸塩を注入した。その後、図 1 (a)に示すように、右側頭部の頭皮及び側頭筋、そして右側頭骨を除去し、硬膜を剥がすことで脳表(右側頭葉)を露出した。頭蓋内圧の上昇を防ぐため、後頸部に小切開を置き、頸髄後部の硬膜を切開して脳脊髄液を持続的に排出させた。頭頂部(矢状縫合の左側)に直径 1 mm の穴をドリルで開け、ソケット電極を接続してこれを基準電極とし、頸部下に針状電極を刺入してこれを接地用電極とした。露出させた脳に剣山型の微小電極アレイ(Blackrock Microsystems, ICS-96)(図 1(a)(i))を、 $700 \mu\text{m}$ 程度の深さに刺入した(図 1(a)(ii))。同電極は、 $400 \mu\text{m}$ 間隔で 96 点の計測点をもつ。



(a) Microelectrode array used in the experiment (i) whole view. (ii) Cortical mapping of neural activities using microelectrode array. The array was inserted in the temporal cortex at the depth of 700 μm from pial surface.



(b) Vagus nerve stimulation (VNS) device (Cyberonics). (i) Whole view. The system consists of the generator and spiral electrode. (ii) Magnified view of the spiral electrode.



(c) Implantation of VNS device. (i) Whole view. The generator is implanted subcutaneously on the dorsal side of rats. (ii) Anatomical landmarks of vagus nerve in a rat. Spiral electrodes are wrapped around the left vagus nerve. (iii) Waveform of VNS. Asymmetric biphasic current pulse with charge balance allowed unidirectional activation of the vagus nerve.

図 1 動物実験

Fig. 1. Animal preparation

計測では、LFP と MUA をサンプリング周波数 1 kHz と 30kHz で、それぞれ記録した。

各計測点で、純音刺激に対する周波数選択性を評価し、聴覚皮質と非聴覚皮質を判別した。刺激音としてトーンバースト音を用い、持続時間、立ち上り・立下り時間を、それぞれ、15 msec と 5 msec した。刺激音の周波数は、1.6 – 64 kHz の範囲で 18 種類、音圧は 20 – 80 dB の範囲を 10 dB 間隔で計 7 種類提示した。周波数-音圧平面上に、各刺激音に誘発される MUA の発火数の分布を求め、そのうち最も低い音圧で発火させられる周波数、すなわち特徴周波数 (Characteristic Frequency; CF) を求めた。なお、CF の定義された計測点を聴覚皮質とした。

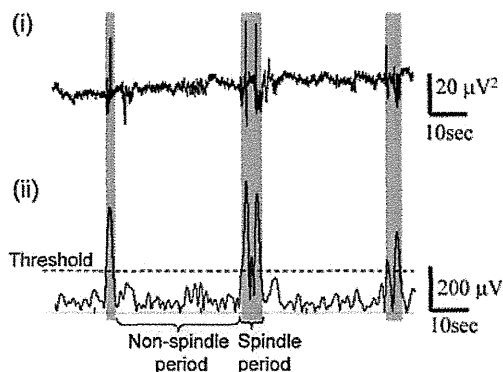
〈2・2〉 VNS 装置と刺激条件 図 1 (b) に、本実験で用いた迷走神経刺激装置 (Cyberonics, Texas, VNS Therapy system model 103) の写真を示す。同装置は、パルスジェネレータとらせん電極から成る。計測一週間前にらせん電極を、左頸部の迷走神経に留置し (図 1 (c) (i))、パルスジェネレータを背側の皮下に埋設した (図 1 (c) (ii))。

VNS の電気刺激パルスは、電荷がが所集積して神経線維を損傷しないよう、2 相性となっている。また、求心性の線維を選択的に活動させるために、一相目の刺激は短時間高振幅、二相目の刺激は長時間低振幅とした。このような電流パルスでは、遠心性の線維が活動する電位の閾値を超えず、求心性の線維のみが刺激される。なお、電流値、パルス幅、刺激周波数、刺激時間、休止時間を刺激装置で調整できる。本実験では、パルス幅を 100 μs に固定し、電流値と刺激周波数を刺激パラメータとして、電流値は 1.0 mA、刺激周波数は 10 Hz とした。この刺激セットは、一度の刺激を 30 秒間、刺激間隔を 5 分として、合計 3 回、繰り返した。

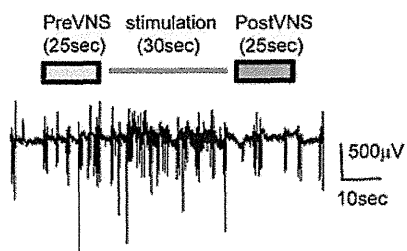
〈2・3〉 てんかん発作状態の誘導

本実験では、同一ラットで健常状態と発作状態の比較を行った。まず、実験開始後、投薬をせずに、VNS を提示した。1 回の刺激を 30 秒として、VNS 刺激を 5 分間隔で計 3 回提示した。その後、30 分のインターバルを置き、カイニン酸 n 水合物 (Kainic acid) を腹腔注射し (12 mg / kg)、人工的にてんかん性異常脳波、すなわち、発作状態を誘発した。カイニン酸は、グルタミン酸受容体のアゴニストであり、海馬の CA3 にある錐体細胞を過剰に興奮させる。その結果、側頭葉てんかんに似た発作を引き起こす。そのため、カイニン酸は側頭葉てんかんのモデルの研究用途として広く扱われている [6]。注射後、約 30 分後に VNS を 30 秒間与え、発作状態での VNS の効果を調べた。この時の刺激パラメータは 1.0 mA / 10 Hz とした。

〈2・4〉 信号解析 麻酔下で計測した LFP には、音刺激に関わらず、スピンドル波が発生する。スピンドル波は、視床に由来する断続的な振動現象であり [7]、神経活動を広範囲で同期させる。そこで、本研究では、図 2 (a) に示すよ



(a) Extraction of non-spindle periods. (i) LFP filtered by a passband of 8 – 13 Hz. (ii) Instantaneous amplitude of filtered LFP. Threshold was settled to identify spindle periods.



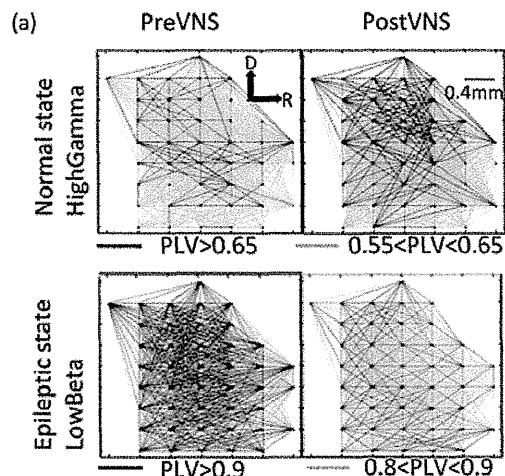
(b) Definition of PreVNS and PostVNS periods, which were used to derive Δ PLV.

図2 実験中の LFP

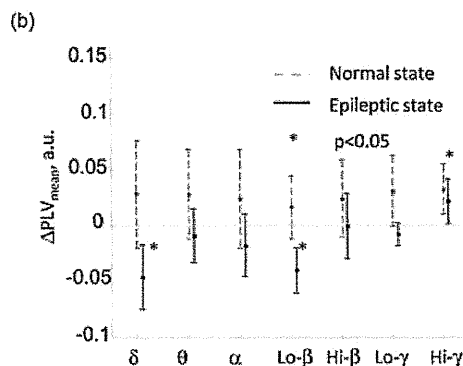
Fig. 2. LFP under test

うに、スピンドル波の有無を判定し、解析対象をスピンドル波形が観測されない時間に限定した。まず、スピンドルの周波数帯域である 11 – 16 Hz のバンドパスフィルタをかけ、ヒルベルト変換を施すことにより、各時刻の瞬時振幅を導出した。その後、スピンドルが出現していないと明らかに認識される区間において、瞬時振幅の平均と分散を求めた。これらの値から導出される Zスコアが 3 以上のとき、波形の点を仮スピンドル時間と定めた。仮スピンドル時間を全計測点で導出し、25 以上の計測点で仮スピンドル時間が重複していた場合は、その時間をスピンドル時間とした。さらにスピンドル波間の時間が 250 msec 以下である場合には、その間の時間帯もスピンドルとして処理した。

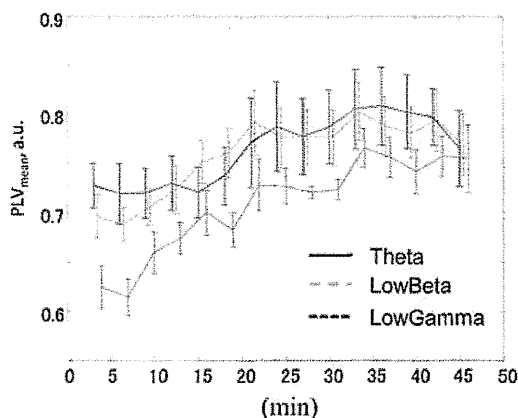
同期度の指標として位相同期度 (Phase Locking Value; PLV) を用いた [8]。まず、計測信号にバンドパスフィルタ、ヒルベルト変換を順次かけ各時刻の瞬時位相を求める。2 チャンネル間 (ch1, ch2) の瞬時位相の位相差を $\Delta\Phi = (\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})$ 、時間長を T とすると、PLV は式 (1) で定義される。



(a) Representative VNS-induced modulation of the cortical synchrony in the auditory cortex. Functional network based on PLV in the normal-state high- γ band (i) and in the epileptic-state low- β band (ii).



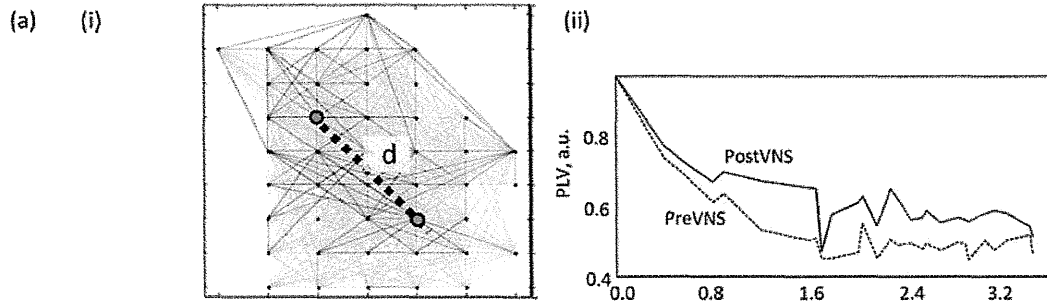
(b) Band specific Δ PLV_{mean} changes by VNS in the normal state (gray dotted line) and epileptic state (black solid line). Asterisks indicated that Δ PLV_{mean} was significantly higher or lower than zero (one-sided t-test).



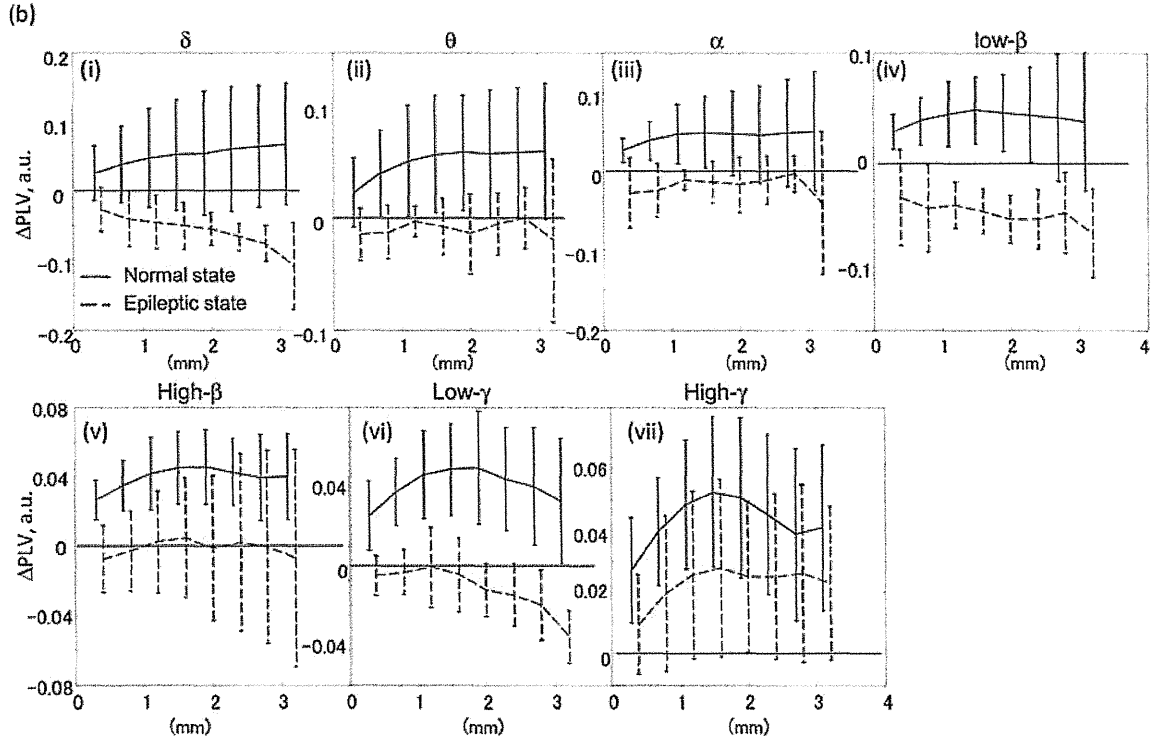
(c) Evolution of epileptic state. Time course of PLV_{mean} were shown after KA injection.

図3 VNSによる神経活動の位相変調

Fig. 3. VNS-induced modulation of neural activities



(a) Representative spatial patterns of PLV before and after VNS. (i) Network patterns of auditory cortex explaining the length between two channels. d represents a length between two channels shown as gray dots. (ii) Representative PLV in a normal state as a function of distances.



(b) Band-specific phase modulation of rats' brain activity in a normal state and in an epileptic state: ΔPLV was quantified as a function of distance in the delta (i), theta (ii), alpha (iii), low beta (iv), high beta (v), low gamma (vi), and high gamma bands (vii). Dashed lines show ΔPLV in an epileptic state, while solid lines show ΔPLV in a normal state. Asterisks indicate that ΔPLV of AC-AC and ΔPLV of nAC-AC are statistically different (two-sided t-test; *, $p < 0.005$).

図4 VNS 由来の位相変調と計測点間の距離の相関

Fig.4. VNS-induced phase modulation as a function of the distance of recording sites

$$PLV(ch1, ch2) = \left| \frac{1}{T} \sum_t e^{i(\Phi_{ch1} - \Phi_{ch2})} \right| \quad (1)$$

この PLV を聴覚皮質内の計測点の全組み合わせで求める。なお、計測点の全組み合わせは、聴覚皮質内の計測点数を N とすると、 $N \times (N - 1) / 2$ となる。これらの PLV の平均値、すなわち、

$$PLV_{mean} = \frac{2}{N(N-1)} \sum_{ch1}^N \sum_{ch2}^N PLV(ch1, ch2) \quad (2)$$

を神経活動全体の同期の指標として用いた。図 2 (b)に示すように、VNS 直前 (PreVNS) と VNS 直後 (PostVNS) の各 25 秒間で PLV_{mean} を計算した。ただし、スピンドルと判断された部分は PLV の計算には含まなかった。PLV の計算は 7 種類の帯域において行った: δ 波, 1~4 Hz; θ 波, 4~8 Hz; α 波, 8~13 Hz; Low- β 波, 13~21 Hz; High- β 波, 21~30 Hz;